

Differenzierung
zwischen Infektion und Kolonisation
mit *Klebsiella pneumoniae*

Barbara Przyklenk

Diss.
München
1984



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554007_0002

Aus dem Max von Pettenkofer-Institut der Universität München
Direktor: Prof. Dr. F. Deinhardt

**Differenzierung zwischen Infektion und Kolonisation
mit *Klebsiella pneumoniae***

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Barbara Przyklenk
aus München

1983

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. A. Bauernfeind

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Deinhardt

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 19.7.1984

Ich möchte mich herzlich bedanken bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. A. Bauernfeind für die Überlassung des Themas, für ständige wertvolle, intensive Diskussionen, für sein Vertrauen und seine aufmerksame Betreuung bei der experimentellen Arbeit.

Dem Direktor des Max von Pettenkofer-Instituts, Herrn Prof. Dr. F. Deinhardt, danke ich für die Überlassung eines Arbeitsplatzes und die großzügigen Arbeitsmöglichkeiten, die mir am Institut zur Verfügung standen.

Herrn Priv. Doz. Dr. M. Roggendorf möchte ich an dieser Stelle für seine Hinweise zur Methodik des ELISA danken.

Die angenehme und offene Atmosphäre in der Arbeitsgruppe war eine weitere wichtige Voraussetzung für einen bestmöglichen Verlauf der Laborarbeit. Ich danke insbesondere Frau C. Petermüller und Frau R. Jungwirth für die gute Zusammenarbeit im Labor.

Ohne besondere Namensnennung danke ich allen ärztlichen Kolleginnen und Kollegen, die mir bei der Beschaffung meiner Serumproben behilflich waren.

GLIEDERUNG

1.	EINLEITUNG	1
2.	MATERIAL, PATIENTEN UND METHODEN	7
2.1.	Material	7
2.1.1.	Serumproben	7
2.1.1.1.	Patienten	7
2.1.1.2.	Kontrollseren	
2.1.2.	Stämme	8
2.1.3.	Nährmedien	10
2.1.4.	Reagenzien	11
2.1.5.	Puffer	12
2.1.6.	Geräte	13
2.2.	Methoden	14
2.2.1.	Identifizierung und Charakterisierung der von den Patienten isolierten Klebsiella pneumoniae Stämme	14
2.2.1.1.	Biotypie	14
2.2.1.2.	Serotypie	14
2.2.1.3.	Bakteriozinotypie	16
2.2.1.4.	Antibiogramm	18
2.2.2.	Antigenpräparationen	19
2.2.2.1.	Kapselantigen - Präparation für den ELISA	19
2.2.2.2.	Lipopolysaccharid - Präparation für den ELISA	22
2.2.2.3.	Antigenpräparation für die passive Hämagglutination	23
2.2.3.	Indirekte ELISA-Technik	24
2.2.3.1.	Kapselantigen-Titration	25
2.2.3.2.	Konjugat-Titration	26
2.2.3.3.	Bestimmung homologer Antikörper in den Patientenseren gegen K-Antigen von Klebsiella pneumoniae im ELISA	26
2.2.3.4.	Kapsel-Mischantigen	28

II

2.2.3.5.	Kreuzreaktionen im ELISA und Absorptionversuche	30
2.2.3.5.1.	Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene	30
2.2.3.5.2.	Kreuzreaktionen zwischen K-Antigenen von <i>Klebsiella pneumoniae</i> und verschiedenen O-Antigenen von <i>Escherichia coli</i>	30
2.2.3.5.3.	Absorption eines Patientenserums mit homologen Antikörpern gegen K 13 an einen heterologen Stamm von <i>Klebsiella pneumoniae</i> K 3	31
2.2.3.5.4.	Absorption an heterologes Kapsel-Mischantigen unter ELISA-Bedingungen	32
2.2.4.	Bestimmung homologer Antikörper gegen K-Antigen von <i>Klebsiella pneumoniae</i> in der Gegenstromimmunelektrophorese	33
2.2.5.	Antikörpertiter-Bestimmung mit der passiven Hämagglutination	34
2.2.5.1.	Passive Hämagglutination mit durch CrCl ₃ an Erythrozyten gekoppelten K-Antigenen	34
2.2.5.2.	Bestimmung der Antikörpertiter im Patientenserum gegen <i>Klebsiella pneumoniae</i> und <i>Escherichia coli</i> in der passiven Hämagglutination	36
2.2.6.	Rheumafaktorbestimmung und Versuch der Rheumafaktorabsorption	37
2.2.7.	Immunglobulinbestimmung	38
3.	ERGEBNISSE	39
3.1.	Typisierung der Patienten isolate nach Biotyp, Serotyp und Antibiotyp	39
3.2.	Optimierung des indirekten ELISA	42
3.2.1.	Bestimmung der Testantigenkonzentration im ELISA	42
3.2.1.1.	K-Antigenkonzentration	42
3.2.1.2.	O-Antigenkonzentration	43
3.2.2.	Optimieren der Verdünnungen der Anti Human Ig A / Ig G / Ig M Peroxidase Konjugate	44

3.3.	Nachweis homologer Antikörper gegen K-Antigen von <i>Klebsiella pneumoniae</i> im ELISA	45
3.3.1.	Titerbestimmung gesunder erwachsener Kontrollpersonen mit dem K-Mischantigen	45
3.3.2.	Bestimmung der Antikörpertiter von 42 Patienten gegen K-Antigen von <i>Klebsiella pneumoniae</i> im ELISA	46
3.3.3.	Zusammenhang zwischen Infektionsort und Titerhöhe im ELISA	47
3.3.4.	Dynamik der Antikörperbildung gegen K-Antigen von <i>Klebsiella pneumoniae</i> im ELISA	48
3.4.	Spezifität des indirekten ELISA	55
3.4.1.	Nachweis von Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene von <i>Klebsiella pneumoniae</i> im ELISA	55
3.4.2.	Kreuzreaktionen zwischen K-Antigenen von <i>Klebsiella pneumoniae</i> und O-Antigenen von <i>Escherichia coli</i> im ELISA	57
3.5.	Absorptionsversuche	61
3.5.1.	Einfluß der Absorption eines Patientenserums an intakte Bakterien eines heterologen K-Serotyps auf Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene im ELISA	61
3.5.2.	Einfluß wiederholter Absorption eines Patientenserums an mit K-Mischantigen gecoatete Mikrotiterplatten auf die homologen und heterologen Reaktionen im ELISA	62
3.6.	Antikörpertiter gegen homologes K-Antigen in der Gegenstromimmunelektrophorese	64
3.7.	Antikörpertiter in der passiven Hämagglutination	66
3.7.1	Antikörpertiter mit den gereinigten K-Antigenen und CrCl ₃ in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN	66
3.7.1.1.	Homologe Antikörpertiter	66
3.7.1.2.	Heterologe Antikörpertiter	67

IV

3.7.2.	Antikörpertiter in der passiven Hämagglutination mit dem NETER-Antigen	69
3.7.2.1.	Homologe Antikörpertiter	69
3.7.2.2.	Heterologe Antikörpertiter mit Klebsiellen	69
3.7.2.3.	Heterologe Antikörpertiter mit Escherichia coli	71
3.8.	Rheumafaktorbestimmung in den Patientenseren und Rheumafaktorabsorption	73
3.9.	Immunglobulinkonzentrationen der Patientenseren	75
4.	DISKUSSION	76
4.1.	Kritischer Grenzwert im ELISA	76
4.2.	Vergleich der Methoden zur Antikörper- bestimmung	80
4.2.1.	Empfindlichkeit	80
4.2.2.	Spezifität	83
4.2.3.	Störfaktor Rheumafaktor	87
4.3.	Zusammenhang zwischen klinischer Symptomatik und Titern im ELISA gegen K-Antigen von Klebsiella pneumoniae	89
4.3.1.	Patienten mit klaren Infektionszeichen und positivem ELISA	90
4.3.2.	Patienten mit klaren Infektionszeichen und negativem ELISA	92
4.3.3.	Patienten mit unklaren Infektionszeichen und positivem ELISA	96
4.3.4.	Patienten ohne Infektionszeichen mit negativem ELISA	103
4.3.5.	Patienten ohne Infektionszeichen, jedoch mit positivem ELISA	104
4.4.	Zusammenhang zwischen Titern im ELISA und Infektionsort	106
4.5.	Vergleich der Titer im ELISA von Monoinfektionen und Mischinfektionen	108

5.	ZUSAMMENFASSUNG	117
ANHANG		119
Abbildungen		119
Tabellen		157
LITERATURVERZEICHNIS		224

Verzeichnis der Abbildungen

Abb. 1	K-Antigen - Titration V.6034 und Nr.4153	120
Abb. 2	K-Antigen - Titration V.32365 und V.6601	121
Abb. 3	K-Antigen - Titration V.2760 und V/8080	122
Abb. 4	O-Antigen - Titration E. coli 0 55 und 0 7	123
Abb. 5	Anti Human Ig A Peroxidase Konjugat-Titration	124
Abb. 6	Anti Human Ig G Peroxidase Konjugat-Titration	125
Abb. 7	Anti Human Ig M Peroxidase Konjugat-Titration	126
Abb. 8	Titerhöhe von gesunden Probanden bei K-Mischantigen im ELISA	127
Abb. 9	Zusammenhang zwischen Titerhöhe im Ig A - ELISA und Infektionsort	128
Abb. 10	Zusammenhang zwischen Titerhöhe im Ig G - ELISA und Infektionsort	129
Abb. 11	Zusammenhang zwischen Titerhöhe im Ig M -ELISA und Infektionsort	130
Abb. 12	Antikörperverlauf des Patienten 2 im ELISA	131
Abb. 13	Antikörperverlauf des Patienten 3 im ELISA	132
Abb. 14	Antikörperverlauf des Patienten 4 im ELISA	133
Abb. 15	Antikörperverlauf des Patienten 6 im ELISA	134
Abb. 16	Antikörperverlauf des Patienten 13 im ELISA	135
Abb. 17	Antikörperverlauf des Patienten 17 im ELISA	136
Abb. 18	Antikörperverlauf des Patienten 18 im ELISA	137
Abb. 19	Antikörperverlauf des Patienten 29 im ELISA	138
Abb. 20	Antikörperverlauf des Patienten 36 im ELISA	139
Abb. 21	Kreuzreaktionen des Serums von Patient 3 mit heterologen K-Antigenen im ELISA	140

VII

Abb. 22	Verlauf der homologen und heterologen Titer gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> im ELISA Patient 3	141
Abb. 23	Kreuzreaktionen des Serums von Patient 4 mit heterologen K-Antigenen im ELISA	142
Abb. 24	Kreuzreaktionen des Serums von Patient 36 mit heterologen K-Antigenen im ELISA	143
Abb. 25	Reaktionen des Serums von Patient 2 mit Antikörpern gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> mit verschiedenen O-Antigenen von <i>E. coli</i> im ELISA	144
Abb. 26	Verlauf der homologen und heterologen Titer gegen <i>E. coli</i> O 4, O 6 und O 55 im ELISA Patient 2	145
Abb. 27	Reaktionen des Serums von Patient 3 mit Antikörpern gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> mit verschiedenen O-Antigenen von <i>E. coli</i> im ELISA	146
Abb. 28	Reaktionen des Serums von Patient 10 mit Antikörpern gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> mit verschiedenen O-Antigenen von <i>E. coli</i> im ELISA	147
Abb. 29	Reaktionen des Serums von Patient 26 mit Antikörpern gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> mit verschiedenen O-Antigenen von <i>E. coli</i> im ELISA	148
Abb. 30	Reaktionen des Serums von Patient 30 mit Antikörpern gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> mit verschiedenen O-Antigenen von <i>E. coli</i> im ELISA	149
Abb. 31	Reaktionen des Serums von Patient 36 mit Antikörpern gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> mit verschiedenen O-Antigenen von <i>E. coli</i> im ELISA	150
Abb. 32	Reaktionen des Serums von Patient 41 mit Antikörpern gegen K-Antigen von <i>K. pneumoniae</i> mit verschiedenen O-Antigenen von <i>E. coli</i> im ELISA	151
Abb. 33	Verlauf der homologen und heterologen Titer gegen <i>E. coli</i> O 2 im ELISA bei Patient 41	152

VIII

Abb. 34	Einfluß der Absorption eines Patientenserums (Patient 18) an <i>K. pneumoniae</i> K 3 auf Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigen im Ig G - ELISA	153
Abb. 35	Einfluß der Absorption eines Patientenserums (Patient 18) an <i>K. pneumoniae</i> K 3 auf Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene im Ig M - ELISA	154
Abb. 36	Einfluß wiederholter Absorption eines Patientenserums (Patient 18) an K-Mischantigen auf die homologe Reaktion im ELISA	155
Abb. 37	Einfluß wiederholter Absorption eines Patientenserums (Patient 18) an K-Mischantigen auf die heterologe Reaktion mit dem K-Mischantigen im ELISA	156

Verzeichnis der Tabellen

Tab. 1	Verzeichnis der Patienten mit klinischer Diagnose, allen bakteriellen Isolierungen und Infektionsort	158
Tab. 2	Biotyp, Serotyp, Bakteriozintyp und Antibiogramm der Patientenisolat	177
Tab. 3	Vergleich der Extinktion im ELISA bei K-Mischantigen oder homologem K-Antigen	184
Tab. 4	Antikörpertiter gegen K. pneumoniae K-Antigen im ELISA	185
Tab. 5	Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Gewinnung der Serumprobe und den Quotienten im ELISA	203
Tab. 6	Antikörpertiter gegen homologes K-Antigen in der Gegenstromimmunelektrophorese (CIE)	204
Tab. 7	Antikörpertiter gegen K. pneumoniae und E. coli in der passiven Hämagglutination nach NETER und ERIKSEN	208
Tab. 8	Einfluß der Rheumafaktor-Absorption an Latexpartikel auf den indirekten ELISA Patient 1	212
Tab. 9	Einfluß der Rheumafaktor-Absorption an Latexpartikel auf den indirekten ELISA Patient 4	216
Tab. 10	Einfluß der Rheumafaktor-Absorption an Latexpartikel auf den indirekten ELISA Patient 19	219
Tab. 11	Einfluß der Rheumafaktor-Absorption an Latexpartikel auf den indirekten ELISA Patient 3	220
Tab. 12	Einfluß der Rheumafaktor-Absorption an Latexpartikel auf den indirekten ELISA Patient 38	221
Tab. 13	Immunglobulinkonzentrationen der Patientenseren	222

1. Einleitung

Die Häufigkeit nosokomialer (= krankenhauserworbener) Infektionen bei stationären Patienten wird im Durchschnitt mit 5 - 8 % angegeben.

DASCHNER [33] fand 1981 am Freiburger Universitätsklinikum eine durchschnittliche Krankenhausinfektionsrate von 4,37 %, wobei das Risiko auf operativen Stationen, Intensivpflegeabteilungen und bei Früh- und Neugeborenen am größten war.

"Die Art der Grundkrankheit disponiert jedoch auch stärker oder weniger stark zu nosokomialen Infektionen" [142]. Bei Patienten mit schnell tödlich verlaufender Grundkrankheit ist das Infektionsrisiko 13,2 mal, bei jenen mit letztlich tödlich verlaufender Krankheit 3,4 mal höher als bei Patienten ohne tödliche Grundkrankheit [138].

Das Spektrum der Krankenhauserreger hat sich in den letzten Jahrzehnten von den grampositiven auf die gramnegativen Erreger verschoben. Unter den gramnegativen Bakterien dominieren neben *Pseudomonas aeruginosa* Enterobakterien der Gattungen *Escherichia*, *Proteus*, *Providencia*, *Serratia*, *Enterobacter* und besonders *Klebsiella pneumoniae*.

Nach YOUNG [165] sind für eine gramnegative Bakteriämie beim Menschen Bakterien der *Klebsiella*-*Enterobacter*-*Serratia* Gruppe nach *E. coli* am häufigsten verantwortlich, vor *Pseudomonas aeruginosa*. Die gleiche Reihenfolge fanden McCABE et al. [16] und auch SOLBERG [146] bei 78 Patienten mit Leukämie, Lymphomen, multiplen Myelom oder vorliegenden Tumormetastasen: 49 % der gramnegativen Sepsisfälle wurden durch Bakterien der *Klebsiella*-*Enterobacter* Gruppe verursacht.

Von allen coliformen Bakterien, die über 22 Monate in der mikrobiologischen Diagnostik der Universität Leeds nachgewiesen wurden, gehörten 16 % zur Gattung *Klebsiella* [24].

MONTGOMERIE [109] setzte sich 1979 mit der Epidemiologie von *Klebsiella* Infektionen auseinander. Die wichtige Rolle von *K. pneumoniae* bei nosokomialen Infektionen zeigen die zahlreichen Berichte von epidemieartigen Ausbrüchen oft multiresistenter *K. pneumoniae* Stämme eines Subtyps auf bestimmten Stationen. Am häufigsten wurden die Ausbrüche bei Neugeborenen und Kindern beobachtet [2, 38, 57, 77, 103, 115]. Die Infektionen schlossen Sepsis, Pneumonie, Meningitis, nekrotische Enterokolitis sowie Wundinfektionen und Harnwegsinfektionen ein. Eine der ersten Beschreibungen eines epidemieartigen Ausbruchs von *K. pneumoniae* Infektionen bei erwachsenen Patienten einer urologischen Station gab ØRSKOV 1954. Dabei wurde der Serotyp K 8 bei 31 von 43 Patienten (72 %) mit *Klebsiella* im Urin gefunden [116]. Zahlreiche Ausbrüche wurden u. a. auf Intensivpflegestationen beobachtet [20, 21, 22, 28, 38, 40, 51, 60, 81, 104, 125, 127, 131, 137, 140, 152].

Die Harnwege sind am häufigsten bei nosokomialen Infektionen mit *K. pneumoniae* betroffen; es kommen aber ebenso Bakteriämien, Meningitiden und Pneumonien vor.

Als Hauptreservoir für nosokomiale Infektionen wird für *K. pneumoniae* und andere gramnegative Bakterien die Kolonisation des menschlichen Organismus mit gramnegativen Bakterien, deren Inzidenz direkt korreliert mit der Dauer des Krankenhausaufenthaltes [154], angesehen. JOHANSON et al. [85] zeigten in einer prospektiven Studie, daß 45 % der auf eine medizinische Intensivpflegestation eingewiesenen Patienten im Respirationstrakt mit gramnegativen Bakterien kolonisiert waren,

22 % bereits am ersten Tag, gegenüber 2 % in der Normalbevölkerung.

Bei *K. pneumoniae* werden als endogenes Reservoir der Verdauungstrakt [24, 37, 62, 141], aber auch der Nasopharynxbereich [62, 162] und die Haut der Hände [20, 25, 62, 93] diskutiert. Über die Kolonisation der Haut der Hände mit *K. pneumoniae* als Reservoir gehen die Meinungen auseinander. Während MONTGOMERIE [109] positive Kulturen von Händen für *K. pneumoniae* als Autokontamination interpretiert und *K. pneumoniae* daher nur zur transienten Flora zählt, sehen CASEWELL et al. [20], COOKE [25], und KNITTLE [93] Hände mit *K. pneumoniae* nicht nur als passives Vehikel der Übertragung an, sondern als echtes Reservoir. Es konnte gezeigt werden, daß gerade *K. pneumoniae* besser auf den Händen überleben kann als z. B. *E. coli* [25] und daß selbst nach Monaten nach Verlassen der Station, auf der sich *K. pneumoniae* Serotyp K 16 ausgebreitet hatte, immer noch dieser Serotyp von den Händen einer Krankenschwester isoliert werden konnte [20]. Bei dieser Krankenschwester zählte *K. pneumoniae* sicher zur residenten Flora der Hände und nicht zur transienten.

Während des Krankenhausaufenthaltes steigt die Träger-rate für *K. pneumoniae* im Stuhl von etwa 10 % bis auf Werte um 35 % [34, 130, 153]. Die Kolonisationsrate für *K. pneumoniae* im Nasopharynxbereich stieg bei JOHANSON et al. [84, 85] auf Werte um 20 %, während POLLACK et al. [122] nach zwei Wochen Krankenhausaufenthalt eine Verdoppelung der ursprünglichen (19 %) Trägerrate fanden.

Während von 33 mit *K. pneumoniae* kolonisierten Patienten acht eine Bakteriämie mit diesem Stamm entwickelten, bekam kein Patient, der nicht vorher mit *K. pneumoniae* kolonisiert war, eine Bakteriämie mit *K. pneumoniae* [165]. SELDEN et al. [141] fanden, daß von 31

Patienten, die intestinale Träger von *K. pneumoniae* wurden, 14 später während ihres Krankenhausaufenthaltes mit dem gleichen Serotyp infiziert wurden.

Der Respirationstrakt unterhalb des Kehlkopfes weist normalerweise keine residente bakterielle Flora auf. Bei Patienten mit chronischer Bronchitis oder Tracheostoma können aber auch diese Bereiche mit *K. pneumoniae* besiedelt werden. JOHANSON et al. [84, 85] konnten zeigen, daß der Grad der Kolonisation mit der Schwere des zugrundeliegenden Krankheitsbildes zunimmt. Koma, Hypotension, Expektorat von Sputum, endotracheale Intubation, Azidose, Azotämie und Leukozytose oder Leukopenie waren signifikant assoziiert mit der gramnegativen Kolonisation.

Von Interesse ist, daß es BLOOMFIELD [11] 1920 weder gelang, *Bacillus Friedländeri* (alte Bezeichnung für *K. pneumoniae*) in der Mundhöhle zu implantieren durch Aufbringen einer Öse mit *Bacillus Friedländeri* auf Zunge, Nasenseptum oder Tonsillen, noch einen chronischen Trägerstatus oder eine Infektion zu induzieren. Andererseits konnte er von zwei Probanden ohne respiratorische Erkrankung über Monate hinweg *Bacillus Friedländeri* isolieren.

Bei Alkoholikern und Diabetikern ist die Prävalenz von gramnegativen Bakterien in der Pharyngealflora schon lange [49, 100, 145, 147] bekannt und damit das Risiko einer gramnegativen Pneumonie nach Aspiration zum Beispiel. FUXENCH-LÓPEZ und RAMÍREZ-RONDA [49] fanden bei 59 % von ambulanten Alkoholikern gramnegative Bakterien, davon 40 % allein *K. pneumoniae*, gegenüber nur 14 % in der Kontrollgruppe. Bei Alkoholikern und Diabetikern kann daher aus expektoriertem Sputum nicht auf eine gramnegative Pneumonie geschlossen werden, durch die Kontamination durch die im Pharynxbereich vorkommenden gramnegativen Mikroorganismen. Daher ist der

einzigste Weg, sich wirklich ein Bild von den Bakterien im Respirationstrakt zu verschaffen, die transtracheale Aspiration, wie sie SNYDMAN und GORBACH [145] vorschlagen.

Aus der möglichen Kolonisation von *K. pneumoniae* bei gesunder Normalbevölkerung ohne respiratorische Erkrankung ist zu folgern, daß bei Erkrankung der Atemwege die Isolation von *K. pneumoniae* zu jenem Zeitpunkt keine klinische Signifikanz haben muß und die pathogenetische Rolle von *K. pneumoniae* im Respirationstrakt vom Patienten selbst mitbestimmt wird. Es ist denkbar, daß *K. pneumoniae* über längere Zeit bei Personen ohne respiratorische Erkrankung isoliert werden kann und es erst bei Eintreten einer allgemeinen oder lokalen Abwehrschwäche zu einer Infektion kommt.

Die Differenzierung bei positiven Sputumbefunden mit *K. pneumoniae* bei nur gering vorhandenen oder gar fehlenden Entzündungszeichen in Infektionen und Kolonisationen ist jedoch für die Therapie, die in aller Regel bei Atemwegsinfektionen antibiotisch sein wird, äußerst wichtig. Ein Patient mit Kolonisation von *K. pneumoniae* braucht nicht den möglichen Nebenwirkungen einer antibiotischen Therapie ausgesetzt zu werden.

Genauso schwierig ist die Beurteilung, wenn selbst bei eindeutigem klinischem Bild mehrere Spezies im Untersuchungsmaterial nachzuweisen sind, wie es bei Wundinfektionen, aber auch Atemwegsinfektionen häufig vorkommt. Nicht alle isolierten Spezies müssen für das klinische Bild verantwortlich sein.

Eine Differenzierung in Kolonisation und Infektion sollte bei nicht gestörter Immunlage des Patienten durch Bestimmung spezifischer Antikörper möglich sein, denn nur im Falle einer Infektion setzt sich der Organismus mit den Erregern auseinander, und es kommt zur

Bildung spezifischer Antikörper gegen die eindringenden Bakterien.

In dieser Arbeit soll untersucht werden, inwieweit im Serum von Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* spezifische Antikörper gegen *K. pneumoniae* nachzuweisen sind, und ob anhand der Bestimmung der spezifischen Antikörper zwischen Infektion und Kolonisation zu differenzieren ist.

Als Methode für die Antikörperbestimmung sollte ein möglichst sensitives Verfahren eingesetzt werden. Wir entschieden uns daher für einen indirekten ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay; zum ersten Mal von ENGVALL und PERLMANN 1972 [41] angewendet), der sich in der Virologie, Parasitologie und Bakteriologie [6, 10, 12, 17, 18, 27, 31, 32, 39, 45, 54, 55, 56, 78, 79, 88, 89, 91, 97, 102, 106, 107, 123, 124, 128, 129, 133, 134, 135, 144, 148, 157, 158, 160, 164] als sensitive und diagnostisch sehr wertvolle Methode erwiesen hat. Um eine Aussage über Spezifität und Sensitivität des indirekten ELISA mit K-Antigen von *K. pneumoniae* als Antigen machen zu können, wird der ELISA verglichen mit der passiven Hämagglutination und der Gegenstromimmunelektrophorese.

2. Material, Patienten und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Serumproben

2.1.1.1 Patienten

Über einen Zeitraum von 14 Monaten, von Dezember 1979 bis Januar 1981, wurden 122 Serumproben von 42 erwachsenen Patienten mit mindestens einmaliger Isolierung von *K. pneumoniae* aus Untersuchungsmaterial gesammelt. Zur Beurteilung der Dynamik der Antikörperbildung wurde versucht, zunächst während des Infektes in wöchentlichen Abständen Serumproben von den Patienten zu gewinnen, später in größeren Abständen.

Bei 15 Patienten konnten wir nur eine Serumprobe erhalten. Bei einem Patienten mit chronischem Harnwegsinfekt dagegen war es möglich, 12 Serumproben über einen Zeitraum von 14 Monaten zu sammeln. Im Durchschnitt erhielten wir drei Serumproben von jedem Patienten.

Die erste Blutprobe erfolgte zwischen dem zweiten und den achtundsiebzigsten Tag nach der ersten *Klebsiella*-Isolierung. Ausnahmen bildeten die beiden folgenden Patienten: Bei einer Patientin mit chronischer Bronchitis konnte seit 1972 immer wieder *K. pneumoniae* aus dem Sputum isoliert werden, bei einem Patienten mit chronischer Bakteriurie seit 1975 immer wieder *K. pneumoniae* aus dem Urin.

Geschlechtsverteilung: m: 23

w: 19

Alter der Patienten: m: 19 - 79 J

w: 31 - 86 J

Durchschnittsalter: m: $63,7 \pm 14,8$

w: $58,6 \pm 16,5$

2.1.1.2 Kontrollseren

Als negative Serumkontrolle wurde Serum eines zwei Monate alten Säuglings verwendet, das uns freundlicherweise von Herrn Prof. Adam aus der Universitätskinderklinik München, Lindwurmstraße, zur Verfügung gestellt wurde.

Als Kontrollgruppe wurden die Seren von acht zum Zeitpunkt der Blutentnahme gesunden, erwachsenen Probanden untersucht.

Geschlechtsverteilung: m: 5

w: 3

Alter der Probanden: m: 23 - 53 J

w: 24 - 47 J

Durchschnittsalter: m: $33,0 \pm 17,3$

w: $31,2 \pm 9,2$

2.1.2. Stämme

Die K. pneumoniae Stämme wurden von Patienten der inneren, chirurgischen, urologischen sowie intensivmedizinischen Abteilungen folgender Krankenhäuser isoliert:

Chirurgische Klinik Innenstadt München,
Medizinische Klinik Innenstadt München,
Chirurgische Poliklinik München,
Medizinische Poliklinik München,
I Frauenklinik der Universität München,
Krankenhäuser des Augsburger Zweckverbandes,
Elisabeth-Krankenhaus Straubing,
Krankenhaus Backnang

Einzelheiten hinsichtlich der Patienten wie klinische Diagnose, alle aus den Krankengeschichten bekannten bakteriellen Isolierungen, bei Klebsiellen mit Stammbezeichnung, sowie Infektionsort gibt Tab. 1 (S. 158 - S. 176).

Zusätzlich zu den genannten Stämmen wurden für verschiedene Typisierungsverfahren und Antikörperbestimmungen folgende Stämme verwendet:

77 *Klebsiella pneumoniae* K-Serotypstämme

(Dr. Ørskov, Statens Seruminstitut, Copenhagen, Denmark)

E. coli 0 1, 0 2, 0 4, 0 6, 0 7, 0 75

(Prof. Marget, Universitätskinderklinik, München)

E. coli 0 14, 0 55

(Prof. Ruckdeschel, Klinikum Großhadern, München)

K. pneumoniae Nr. 96, Nr. 168, Nr. 207

(Prof. Bauernfeind, Max von Pettenkofer-Institut, München)

2.1.3. Nährmedien

- Tryptone Soya Broth = TSB (DIFCO, Detroit, Michigan, USA)

Zusammensetzung: Pancreatic Digest of Casein 17,0 g
 Papaic Digest of Soybean Meal 3,0 g
 Dextrose 2,5 g
 Sodium chloride 5,0 g
 Dibasic potassium phosphate 2,5 g

Konzentration: 30 g/1000 ml aqua dem.

- Tryptone Soya Agar = TSA (DIFCO, Detroit, Michigan, USA)

Zusammensetzung: Pancreatic Digest of Casein 15,0 g
 Papaic Digest of Soybean Meal 5,0 g
 Sodium chloride 5,0 g
 Bacto Agar 15,0 g

Konzentration: 40 g/1000 ml aqua dem.

- Mueller Hinton Broth = MHB (DIFCO, Detroit, Michigan, USA)

Zusammensetzung: Beef Infusion from 300 g
 Casamino Acids Technical 17,5 g
 Bacto soluble Starch 1,5 g

Konzentration: 21 g/1000 ml aqua dem.

- Mueller Hinton Agar = MHA (DIFCO, Detroit, Michigan, USA)

Zusammensetzung: Beef Infusion from 300 g
 Casamino Acids Technical 17,5 g
 Bacto soluble Starch 1,5 g
 Bacto Agar 17,0 g

Konzentration: 38 g/1000 ml aqua dem.

- Mac Conkey Agar (OXOID, Basingstoke, Hants., England)

Zusammensetzung: Peptone 20 g
 Lactose 10 g
 Bile Salts 5 g
 Sodium Chloride 5 g
 Neutral Red 0,075 g
 Agar 12 g

Konzentration: 52 g/1000 ml aqua dem.

- Worfel-Ferguson Agar (DIFCO, Detroit, Michigan, USA)

Zusammensetzung: Bacto-Yeast Extract 2,0 g
 Magnesium Sulfate 0,25 g
 Potassium Sulfate 1,0 g
 Sodium Chloride 2,0 g
 Bacto-Saccharose 20 g
 Bacto-Agar 15 g

Konzentration: 40,3 g/1000 ml aqua dem.

2.1.4. Reagenzien

- Agarose A, B, C (Deutsche Pharmacia, Freiburg)
- Albumin aus Rinderserum, lyophil, rein, 92 % = BSA (Serva, Heidelberg)
- Cetyltrimethylammoniumbromid = Cetavlon^R (Serva, Heidelberg)
- Human Erythrozyten der Blutgruppe 0 Rh +, 4 % (Behring Institut, Marburg)
- Mitomycin C (KYOWA, Japan)
- OPD = 1,2 Phenylendiamin (Merck, Darmstadt)
- Rheumafaktor Latextest (Behring Institut, Marburg)

- Rabbit Anti Human
 Ig A (specific for α chains)
 Ig G (specific for γ chains) Horseradish Peroxidase -
 Ig M (specific for μ chains)
 conjugated antibodies (Dako - immunoglobulin,
 Kopenhagen, Dänemark)
- Tri-Partigen^R - Ig A/ Ig G/ Ig M (Behring Institut,
 Marburg)
- Tween^R 20 (Schuchard, Hohenbrunn bei München)

2.1.5. Puffer

- Barbituratpuffer pH 8,6 Ionenstärke: 0,1
 5,5 - Diäthylbarbitursäure Natriumsalz 53,52 g
 Natriumacetat x 3 H₂O 35,32 g
 ad 6000 ml aqua dem.
 mit 1 M HCl auf pH 8,6 einstellen.
- Carbonatpuffer pH 9,5 0,1 M
 Lösung A: 0,2 M Na₂CO₃ x 10 H₂O 57,23 g/l
 Lösung B: 0,2 M NaHCO₃ 16,8 g/l
 13 ml von Lösung A + 37 ml von Lösung B
 + 50 ml 0,5 M NaCl (29 g/l).
- Phosphatpuffer pH 6,0 0,1 M
 Lösung A: 0,2 M NaH₂PO₄ x 1 H₂O 27,6 g/l
 Lösung B: 0,2 M Na₂HPO₄ x 2 H₂O 35,6 g/l
 87,7 ml von Lösung A + 12,3 ml von Lösung B
 + 100 ml aqua bidest.

- PBS = Phosphat - gepufferte Kochsalzlösung

Stammlösung A:	NaCl	80,0	g
	KCl	2,0	g
	Na ₂ HPO ₄ x 12 H ₂ O	28,98	g
	KH ₂ PO ₄	2,0	g
	aqua bidest. ad 1000 ml		
Stammlösung B:	CaCl ₂ x 2 H ₂ O	1,325	g
	MgCl ₂ x 6 H ₂ O	1,0	g
	aqua bidest. ad 1000 ml		
Verwendung:	1 : 10 verdünnt:		
	100 ml Lösung A + 800 ml aqua bidest.		
	+ 100 ml Lösung B		

2.1.6. Geräte

- Gilford Spectrophotometer 240
- Controlled Environment Incubator Shaker, New Brunswick Scientific Company, USA, zur Inkubation von Flüssigkulturen unter Schütteln
- Corning colorimeter 252 zur Messung der optischen Dichte von Bakteriensuspensionen bei 600 m
- Denley Multipoint Inoculator AM 80 zum Aufbringen der Producer- und Indikatorstämme bei der Bakteriozino- typie und zum Aufbringen der Teststämme bei der Minimalen Hemmkonzentrationsbestimmung (MHK)
- ELISA Miniwash (Dynatech Deutschland GmbH, Denkendorf)
- Elektrophoresekammer (LKB) Multiphor
- Eppendorfzentrifuge für Eppendorfreaktionsgefäße
- Sorvall RC - 5 B Refrigerated Superspeed Centrifuge mit dem SS.34 Rotor Ø 23 cm
- Titertek Multiskan Photometer (Flow Laboratories GmbH, Meckenheim) zum Messen der Extinktion der ELISA Mikrotiterplatten bei 510 nm

2.2. Methoden

2.2.1. Identifizierung und Charakterisierung der von den Patienten isolierten Klebsiella pneumoniae Stämme

2.2.1.1. Biotypie

Alle Klebsiella Isolierungen von den Patienten wurden mit api 20 E - Enterobacteriaceae (api bio Mérieux, Nürtingen) auf ihre biochemischen Stoffwechselleistungen hin untersucht.

Im Gegensatz zur Anleitung des Herstellers wurden die Stämme nach Übernachtkultur auf festem Nährmedium (meist Mac Conkey Agar) in sterilem aqua dem. suspendiert auf eine optische Dichte von $0,200 = 2 \times 10^8$ KB/ml. Nach 20 h Bebrüten bei 37°C wurden die Indikatorreaktionen abgelesen.

2.2.1.2. Serotypie

Um auszuschließen, daß es sich bei Mehrfachisolierungen von Patienten um Kopien des gleichen Stammes handelt, wurden sämtliche Stämme serotypisiert mit Hilfe der Gegenstromimmunelektrophorese nach der gering modifizierten Methode von PALFREYMAN [119].

Die Stämme wurden nach Übernachtkultur frisch auf Mac Conkey Agar und Worfel-Ferguson Agar ausgestrichen, 48 Stunden bei Zimmertemperatur bebrütet. Als Kapselantigen wird eine Suspension von dem Agar mit der besseren Schleimproduktion mit optischer Dichte von 2×10^8 KB/ml in physiologischer Kochsalzlösung mit 0,1 % Natriumazid verwendet.

K-Antiseren stammten aus der Abteilung für Experimentelle Medizinische Mikrobiologie des Max von Pettenkofer-Instituts in München. Sie waren bereits früher durch Immunisierung von Kaninchen mit über Nacht formalinisierten Bakteriensuspensionen (0,375 ml gesättigte Formaldehydlösung/100 ml physiologischer Kochsalzlösung), die am nächsten Tag dreimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen worden waren, gewonnen worden. Die Suspension wurde auf OD 1,000 eingestellt. Die Dosis von 0,15 ml/kg, injiziert in die Ohrvene, wurde bis zur fünften Injektion jeweils verdoppelt. Nach der fünften Injektion wurde der Titer in der Gegenstromimmunelektrophorese bestimmt. Bei genügend hohem Titer wurde das Kaninchen entblutet, ansonsten erfolgten weitere Injektionen des Antigens in gleichbleibender Dosierung.

Zur schnelleren Kapseltypisierung wurden die Antiseren ihren Kreuzreaktionen entsprechend zu verschiedenen Serumpools gemischt, so daß bei Präzipitatbildung bei einem Pool nur noch gegen die Bestandteile dieses Pools getestet werden mußte.

Als Gel wurde 1 % Agarose verwendet (meist in der Mischung Agarose B/C = 3/1), die in einem Teil Barbituratpuffer pH 8,6, Ionenstärke 0,1, und vier Teilen aqua dem. gelöst wurde. 15 ml des erhitzten flüssigen Agarosegels wurden auf Glasplatten der Größe 8,4 x 9,4 cm gegossen. Diese Glasplatten waren kurz zuvor entfettet worden und zum besseren Haften des Gels waren vorher 0,5 ml des Gels gleichmäßig auf der Oberfläche der Glasplatten verrieben worden.

Nach dem Erkalten und Festwerden wurden mit einer Stanze ($\emptyset$ 2,5 mm) entsprechend der Schablone Multiphor Kit LKB parallele Reihen von Löchern gestanzt.

Das zu testende Antigen wurde in die der Kathode nähere Vertiefung, das Antiserum in die der Anode näheren Vertiefung getropft, jeweils 5 μ l mit dem Partigen Dispenser (Behring Institut, Marburg).

Zur Auffüllung der Elektrophoresekammern wurde der gleiche Barbituratpuffer verwendet wie für das Lösen der Agarose. Die Elektrophoresekammern wurden mit dem Agarosegel verbunden durch Streifen von Whatman Chromatographie Papier, die mit Glasstäben beschwert wurden. Die Laufzeit der Elektrophorese betrug 30 Minuten, die Stromstärke 20 mA/Objektträger, die Spannung 6 V/cm.

2.2.1.3. Bakteriozinotypie

Alle *Klebsiella* Stämme wurden nach ihrer Bakteriozinempfindlichkeit typisiert, wie von Bauernfeind [8] beschrieben. Als Producersatz dienten die K-Serotypferenzstämme K 1/K 17/K 23/K 24/K 44 und drei *Klebsiella* Isolierungen (Nr. 96, Nr. 168 und Nr. 207) aus Untersuchungsmaterial von Patienten.

TSA Agar (25 ml, $\varnothing$ 9 cm - Plastikpetrischalen) allein oder mit Mitomycin C (0,1/0,25 μ g/ml in Methanol gelöst) zur Steigerung der Bakteriozinproduktion wurde als Medium verwendet. Der Inhalt eines Fläschchens Mitomycin C (ca. 2 mg) wurde in 4 ml Methanol gelöst und die genaue Aktivität der Substanz photometrisch über die Extinktion bei 360 nm gegen Leerwert (Methanol) gemessen ($E_{0,742} = 10 \mu\text{g/ml}$). Die Producerstämme ließ man in 4 ml TSB Vorkultur bis zur späten logarithmischen Phase im Schüttler heranwachsen. Die Dichte der Vorkultur wurde auf $OD_{0,400} = 4 \times 10^8 \text{ KB/ml}$ eingestellt. Diese Suspension wurde 1:5 verdünnt in TSB (4 ml Suspension + 16 ml TSB) in leeren Petrischalen, aus

denen mit Hilfe eines Multipoint Inoculator kreisförmig ($\emptyset$ 55 mm) die verdünnte Suspension in die Mitte der TSA Platten aufgetragen wurde.

Nach Inkubation 16 Stunden bei 32 °C wurde der Bakterienrasen in der Mitte der TSA Platte vorsichtig mit Objektträgern und Filterpapier entfernt; übriggebliebene Bakterienzellen wurden durch Chloroformdämpfe über 15 Minuten inaktiviert.

Die zu typisierenden Stämme (Indikatoren) wurden in 4 ml TSB eingepflegt. Nachdem sie bis OD 0,065 in der exponentiellen Phase gewachsen waren, wurden sie 1:500 in TSB verdünnt. Von den verdünnten Suspensionen wurden jetzt pro Stamm zwei sterilisierte Metallnäpfchen mit jeweils 1 ml gefüllt. Mit dem Multipoint Inoculator wurden die Indikatoren jeweils an zwei Stellen aufgetragen (Einsaat: 200 KB/Punkt), einmal innerhalb der Wachstumszone des Bakteriozin bildenden Stammes und einmal außerhalb. Mit diesem System gelang es, acht Stämme gleichzeitig auf Bakteriozinempfindlichkeit eines bestimmten Producers zu testen.

Um ein Verschleppen des Bakteriozins zu vermeiden, wurden die Impfstifte nach jeder Petrischale kurz in 96 % vergällten Alkohol gehalten und dann ausgeglüht. Um auszuschließen, daß Bakteriozinempfindlichkeit durch Mitomycinempfindlichkeit vorgetäuscht wurde, mußten sämtliche Indikatoren auf mitomycinhaltigem Medium (0,1 und 0,25 μ g/ml) ohne vorheriges Producerwachstum ge-pointed werden.

Nach 16 Stunden Bebrüten bei 37 °C wird das Wachstum der Indikatoren innerhalb und außerhalb der Wachstumszone des Producers verglichen und beurteilt.

2.2.1.4. Antibiotogramm

Das Resistenzverhalten der isolierten Klebsiella-Stämme wurde mit dem Agardilutionstest untersucht.

Getestet wurden die minimalen Hemmkonzentrationen für folgende Antibiotika:

Cefalothin (C-loth)	Rifampicin (Rif)
Cefuroxim (C-urx)	
Cefamandol (C-man)	Tetracyclin (Tetra)
Cefotiam (C-tiam)	
Cefoxitin (C-fox)	Chloramphenicol (Cml)
Cefotaxim (C-tax)	
Ceftriaxon (C-tri)	Sulfamethoxazol - Trimethoprim (Sm-Trim)
Ceftizoxim (C-tiz)	Sulfamethoxazol (Sm)
Lamoxactam (Lamox)	Trimethoprim (Trim)
Cefoperazon (C-per)	
	Nalidixinsäure (Nx)
Carbenicillin (Carb)	Nitrofurantoin (Nitro)
Ticarcillin (Ticar)	
Azlocillin (Azlo)	
Mezlocillin (Mezlo)	
Piperacillin (Pipera)	
Kanamycin (Kana)	
Gentamicin (Genta)	
Tobramycin (Tobra)	
Netilmicin (Netil)	
Amikacin (Ami)	
Streptomycin (Strepto)	

Als Medium wurden 50 ml Mueller Hinton Agar für quadratische Plastikpetrischalen (11,5 cm x 11,5 cm) verwendet. Dem noch flüssigen Agar wurde aus einer Stammlösung soviel Antibiotikum zupipettiert, daß die gewünschte Endkonzentration in der Platte erreicht wird. Die Antibiotikakonzentrationen wurden in einer geometrischen Verdünnungsreihe angelegt.

Die Vorkulturen der Stämme in 4 ml MHB ließen wir bei 37 °C hochwachsen. Nachdem die Dichte auf OD 0,130 eingestellt und anschließend 1:10 in MHB verdünnt worden war, pipettierten wir jeweils 200 µl in sterile Mikrotiterplatten mit flachem Boden (Dynatech), jeweils mit einem Loch Abstand. Mit einem Multipoint Inokulator wurden die Agarschalen aus der Mikrotiterplatte heraus beimpft (Einsaat = 10^4 KB/Punkt).

Nach 16 Stunden Bebrütung bei 37 °C Ablesung der MHK. Für jeden Stamm wurden Wachstumskontrollen auf MHA ohne Antibiotikum mitgeführt.

2.2.2. Antigenpräparationen

2.2.2.1. Kapselantigen-Präparation für den ELISA

Zur K-Antigen-Präparation der Patientenstämme verwendeten wir die Methode nach NIMMICH [114] mit geringfügigen Änderungen.

Von einer Übernachtgarkultur wurde in physiologischer Kochsalzlösung eine Suspension der OD 0,100 hergestellt und anschließend 1:100 in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt. Von dieser verdünnten Suspension wurden auf fünf Petrischalen (Ø 9 cm) mit Worfel-Ferguson Agar oder mit Mac Conkey Agar, je nachdem auf welchem Medium mehr Schleim produziert wurde, jeweils 300 µl aufgetragen und gleichmäßig verteilt. 20 Stunden wurden die Stämme bei 37 °C im Brutschrank bebrütet, danach noch

20 Stunden bei Zimmertemperatur. Nach 40 Stunden wurden die Bakterienrasen vorsichtig mit Objektträgern von der Agaroberfläche abgekratzt, das Bakterienfeuchtgewicht bestimmt (je nach Schleimproduktion zwischen 1 und 11 g, im Durchschnitt 6 g) und anschließend in sterilem aqua dem. in 50 ml oder 100 ml Erlenmeyer Kölbchen suspendiert. 1 g Bakterienfeuchtgewicht wurde in 2 ml aqua dem. suspendiert. Die Bakteriensuspension wurde anschließend mit der gleichen Menge 90 % wäßrigen Phenols (90 g Phenol + 10 g H₂O, auf eine Temperatur von 68 °C gebracht) versetzt und 10 Minuten bei 68 °C im Wasserbad erhitzt unter wiederholtem Schütteln. Nach Abkühlen wurden die phenolisierten Bakteriensuspensionen in Zentrifugengläser (Corex 30 ml) umgefüllt. Nach der Zentrifugation der homogenen Mischung 15 Minuten bei 8000 Upm fanden sich eine obere wäßrige Phase (phenol-gesättigt), eine untere bräunlich-klare (bei Verwendung von Worfel-Ferguson Agar) oder rötlich-klare (bei Verwendung von Mac Conkey Agar) phenolische Phase (wasser-gesättigt), ein unlöslicher Rest, der eine Schicht zwischen den beiden Phasen bildete, und Bakterienreste am Boden der Zentrifugengläser.

In der phenolischen Phase befinden sich Proteine, in der vorsichtig abpipettierten wäßrigen Phase Lipopolysaccharid, saures Polysaccharid (= Kapselantigen) und Nukleinsäuren.

Die wäßrige Phase wurde in Visking^R Dialysierschläuchen (Serva, Heidelberg) 12 Stunden gegen fließendes Leitungswasser und 30 - 40 Stunden gegen aqua dem. zum Entfernen des Phenols dialysiert.

Die dialysierte wäßrige Phase wurde anschließend mit einer 6 % wäßrigen Lösung von Cetyltrimethylammoniumbromid versetzt, so daß daraus eine Endkonzentration von 1 % Cetavlon^R resultierte. Über Nacht ließ man die

Cetavlonosalze der sauren Polysaccharide und der Nukleinsäuren bei 4 °C sedimentieren. Nach 15 minütiger Zentrifugation bei 8000 Upm befanden sich im Überstand die Lipopolysaccharide, die durch ihren geringeren Säurecharakter (geringere negative Ladung) verglichen mit den K-Antigenen (Uronsäuregehalt der K-Antigene) und den Nukleinsäuren mit Cetavlon^R keine unlöslichen Salze bilden und in Lösung bleiben [86].

Bei den wenigen Proben, bei denen sich nach dem Zentrifugieren kein klarer Überstand oder eine Zwischenphase zeigte, wurde die Cetavlonkonzentration auf 1,5 % erhöht, die Proben über Nacht bei 4 °C stehen gelassen und am nächsten Tag erneut zentrifugiert. Dann zeigten sich klare Überstände und ein deutlich abgesetztes Sediment.

Nach Absaugen des Überstandes mit der Wasserstrahlpumpe wurde das glasig visköse Sediment in 1 M NaCl gelöst. Durch Hinzufügen der dreifachen Menge aqua dem. wurde die NaCl-Konzentration auf 0,25 M reduziert. Die bei dieser Salzkonzentration nicht mehr löslichen und sofort ausfallenden Nukleinsäure-Cetavlonosalze [86] wurden eine Stunde bei 15000 Upm abzentrifugiert. Aus dem Überstand wurden mit der fünffachen Menge absoluten Alkohols über Nacht bei 4 °C die K-Antigene ausgefällt. Nach 20 minütiger Zentrifugation bei 8000 Upm wurde das Sediment noch zweimal in 1 M NaCl gelöst, was eine längere Quellungszeit erforderte, und mit der fünffachen Menge absoluten Alkohols versetzt. Schließlich wurde das Sediment mit Aceton gewaschen und nach 15 minütiger Zentrifugation bei 9000 Upm im Vakuumexsiccator getrocknet sowie das Trockengewicht des präparierten K-Antigens bestimmt.

Die Ausbeute betrug zwischen 14 mg und 205 mg, im Durchschnitt 80 mg. Das entspricht 1,3 % des Bakterienfeuchtgewichtes.

Da eine Dialyse der K-Antigene nach der letzten Alkoholfällung aus 1 M NaCl gegen aqua dem. die Extinktion im ELISA nicht erhöhte, wurde auf diesen Schritt im Gegensatz zu NIMMICH [114] verzichtet.

UNDEUTSCH und BRUNNER [156] verwendeten bei ihrer Präparation von Antigenen von *K. pneumoniae* für den ELISA direkt den dialysierten und getrockneten Phenol/Wasser-Extrakt ohne weitere Abtrennung der Nukleinsäuren und Lipopolysaccharide.

2.2.2.2. Lipopolysaccharid-Präparation für den ELISA

Um Kreuzreaktionen zwischen den K-Antigenen von *K. pneumoniae* und den O-Antigenen von *E. coli* untersuchen zu können und damit eine Aussage über die Spezifität des ELISA machen zu können, wurden von sechs verschiedenen *E. coli* O-Serotypen LPS präpariert. Wir verwendeten die O-Serotypen: *E. coli* O 2, O 4, O 6, O 7, O 55 und O 75. *E. coli* O 2, O 4, O 6, O 7 und O 75 suchten wir aus, da sie zu den am häufigsten isolierten O-Serotypen von *E. coli* bei Harnwegsinfekten und aus Stuhlproben gehören [19, 108, 121, 143]. *E. coli* O 55 wurde als seltener O-Serotyp als Kontrollantigen mitpräpariert.

Die LPS-Präparation erfolgte modifiziert nach WESTPHAL et al. [163].

Zur Bakterienanzüchtung wurden 20 TSA Platten mit jeweils 300 µl einer Suspension mit der OD 0,010 einer frischen Übernachtskultur gleichmäßig beschickt. Nach 40 Stunden Bebrütung bei 37 °C wurden die Bakterienrasen vorsichtig mit Objektträgern abgekratzt. Nach der Bakterienfeuchtgewichtbestimmung (im Durchschnitt: 5,2 g) wurden die Bakterien in sterilem aqua dem. suspendiert, jeweils 2 ml für 1 g Bakterienfeuchtgewicht. Die

anschließende Phenolextraktion bei 68 °C mit der gleichen Menge an 90 % vorher auf 68 °C erhitztem Phenol wurde zur größeren Ausbeute an LPS auf 20 Minuten verlängert. Dabei wurden die Proben laufend geschüttelt. Nach Abkühlen und 15 minütiger Zentrifugation bei 8000 Upm wurde die wäßrige Phase vorsichtig abpipetiert. Nach Dialyse 12 Stunden gegen fließendes Leitungswasser und 30 Stunden gegen aqua dem. wurde 6 % Cetavlon^R zum Ausfällen der Nukleinsäure und der K-Antigene zugesetzt, so daß eine Endkonzentration von 1 % vorlag.

Nach 15 minütigem Zentrifugieren bei 8000 Upm wurde aus dem LPS enthaltenden Überstand, der auf eine NaCl Konzentration von 1 M gebracht worden war, das LPS mit der sechsfachen Menge absoluten Alkohols ausgefällt, über Nacht bei 4 °C. Am nächsten Tag wurde in der Ecco superior II B Laborzentrifuge auf Höchststufe (3000 Upm) 20 Minuten zentrifugiert. Das Sediment wurde in 10 ml 1 M NaCl gelöst, nochmals mit 60 ml absolutem Alkohol ausgefällt und erneut in 1 M NaCl gelöst.

Nach Dialyse gegen aqua dem. über 12 Stunden wurde das LPS lyophilisiert und das Trockengewicht bestimmt.

Die Ausbeute betrug im Durchschnitt 24 mg. Das entspricht 0,5 % des Bakterienfeuchtgewichtes.

2.2.2.3. Antigenpräparation für die passive Hämagglutination

Von einigen Klebsiella Stämmen, die von den Patienten isoliert worden waren, und einigen E. coli O-Serotypen (O 1, O 2, O 4, O 6, O 7, O 14, O 55, O 75) wurde nach NETER [111] und ADAM [1] ein Antigen für die passive Hämagglutination präpariert. Antigen vom Stamm E. coli O 14 wurde als Indikator für Antikörper gegen das

"enterobacterial common antigen" [94, 95, 96, 105, 112] verwendet. Eine Flüssigkultur der Bakterien in TSB, die über Nacht gewachsen war, wurde auf optische Dichte 0,100 eingestellt und anschließend 1:10 verdünnt auf optische Dichte 0,010 (10^7 KB/ml). Vier TSA Platten (bei E. coli) oder vier Mac Conkey bzw. Worfel-Ferguson Platten (je nach optimaler Schleimproduktion bei den Klebsiellen) wurden mit 300 μ l dieser verdünnten Suspension gleichmäßig beimpft. Der über Nacht bei 37 °C dicht gewachsene Bakterienrasen wurde mit Objektträgern abgekratzt und in 40 ml physiologischer Kochsalzlösung suspendiert (verteilt auf 2 Corex^R Zentrifugengläser (30 ml). Durch fünfmaliges Zentrifugieren (10000 Upm, 15 Minuten, 4 °C), jeweiliges Dekantieren des Überstandes und Resuspendieren im gleichen Volumen physiologischer Kochsalzlösung wurden die Bakterien gewaschen. Daraufhin wurde die Suspension eine Stunde bei 121 °C, 1 atü autoklaviert. Durch Zentrifugation 40 Minuten bei 15000 Upm wurden Zellreste von der antigenhaltigen Flüssigkeit getrennt. Der Überstand wurde abpipettiert. Das Sediment wurde mit dem gleichen Volumen (2 x 20 ml) physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert und ebenfalls 40 Minuten bei 15000 Upm zentrifugiert. Beide Überstände wurden vereinigt und als Antigenlösung verwendet.

2.2.3. Indirekte ELISA-Technik

Zum Nachweis spezifischer Antikörper in den Patientenserum gegen Kapselantigen von K. pneumoniae verwendeten wir eine indirekte ELISA-Technik, wie von VOLLER et al. [159] beschrieben.

An ELISA Mikrotiterplatten (Dynatech) aus Immulon^R wird das Antigen gebunden. An das Antigen binden sich die im Serum enthaltenen Antikörper, die durch ein Anti-Human-Immunglobulin-Peroxidase-Konjugat nachgewiesen werden. Das gebundene Enzym katalysiert die Oxidation von 1,2-Phenylendiamin unter Reduktion von Wasserstoffperoxid zu einem Farbstoff, dessen Extinktion bei 510 nm gemessen werden kann.

Um die optimale Antigenkonzentration zum Coaten der Mikrotiterplatten und die optimale Verdünnung des Konjugates zu ermitteln, mußten Antigentitrations und Titrations des Konjugates vorgenommen werden.

2.2.3.1. Kapselantigen-Titration

Dazu wurden K-Antigen-Verdünnungsreihen aus der Antigenstammlösung (5 mg/2,5 ml physiologische Kochsalzlösung, die 0,1 % Natriumazid enthielt) in 0,1 M Carboxypuffer pH 9,5, angelegt:

0,01 - 0,1 - 1 - 10 - 50 - 100 - 500 - 1000 µg/ml

Bei Seren mit hohem Gehalt an Antikörpern gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* wurde im indirekten ELISA untersucht, wie sich diese unterschiedlichen Antigenkonzentrationen auf die Extinktion und den Quotienten $E_{\text{Patientenserum}}/E_{\text{negatives Kinderserum}}$ auswirken. Es wurde die Antigenkonzentration gesucht, bei der der Unterschied zwischen dem positiven und negativen Serum am größten war.

Dazu wurde die Serumverdünnung konstant gehalten und betrug im allgemeinen 1:10². Nur bei einem Serum mit besonders hohem Antikörpertiter wurde die Serumverdünnung 1:10³ gewählt. Als Vergleich dazu wurde die Antigentitrationskurve mit der gleichen Serumverdünnung des negativen Kinderserums durchgeführt.

2.2.3.2. Konjugat-Titration

Für alle drei Anti Human Ig A bzw. Ig G bzw. Ig M - Peroxidasekonjugate wurde in mehreren Verdünnungsstufen in PBS + 3 % Tween^R 20 die optimale Konjugatverdünnung bestimmt, bei der die größten Quotienten $E_{\text{Patientenserum}}/E_{\text{negatives Kinderserum}}$ zu finden waren. Dazu wurden die Anti Human Ig A und Ig M Peroxidasekonjugate folgendermaßen verdünnt:

1:200 - 1:400 - 1:800 - 1:1000 - 1:2000

Beim Anti Human Ig G Peroxidase Konjugat wurde wegen seiner hohen Aktivität auf die Verdünnung 1:400 verzichtet.

Als Serumverdünnung wurden für die hochtitrigen Patiententestseren und das negative Kinderserum die Verdünnungen $1:10^2$, $1:10^3$ und $1:10^4$ gewählt. Die K-Antigen Konzentration zum Coaten der Mikrotiterplatten wurde mit 50 µg/ml konstant gehalten.

2.2.3.3. Bestimmung homologer Antikörper in den Patientenseren gegen K-Antigen von *Klebsiella pneumoniae* im ELISA

Bei der Bestimmung der Antikörpertiter der Patienten im ELISA wurde das vom Patientenstamm präparierte K-Antigen (Stammlösung: 5 mg in 2,5 ml physiologischer Kochsalzlösung + 0,1 % Natriumazid) in 0,1 M Carbonatpuffer pH 9,5 auf die Endkonzentration von 50 µg/ml gebracht. Hiervon wurden 50 µl in sterile Mikro ELISA Platten (Dynatech) mit flachem Boden pipettiert und über Nacht bei 4 °C in einer feuchten Kammer aufbewahrt.

Nach drei Waschvorgängen (Dynatech Miniwash) mit jeweils 200 µl PBS + 0,05 % Tween^R 20, wobei der Waschpuffer jeweils zwei Minuten einwirken sollte, und

gutem Ausschütteln der Platten nach dem letzten Absaugen, wurden 50 μl Serum in den Verdünnungen 1:10², 1:10³ und 1:10⁴ einpipettiert. Die Seren wurden in PBS + 3 % Tween^R 20 + 1 % BSA verdünnt. Nach zwei Stunden Inkubation bei 37 °C in feuchter Kammer wurden die Platten erneut dreimal gewaschen, wie oben beschrieben. Danach wurden mit einer 50 μl Tropfpipette die Anti Human Ig A/ Ig G/ Ig M Peroxidase-Konjugate (DAKO - immunoglobulins, Dänemark) aufgetropft. Die Konjugate wurden in PBS + 3 % Tween 20^R folgendermaßen verdünnt: Anti Ig A: 1:800 Anti Ig G: 1:1000 Anti Ig M: 1:200 Wieder wurden die Platten zwei Stunden bei 37 °C in feuchter Kammer inkubiert. Nach der Inkubation wurden die Platten insgesamt viermal gewaschen, wobei die ersten drei Male der Waschpuffer drei Minuten einwirkte und das letzte Mal fünf Minuten. Beim letzten Absaugen wurde, um Metallverunreinigungen zu vermeiden, vorsichtig mit einer Pasteurpipette abgesaugt, ohne den Boden zu zerkratzen.

Vom frisch vor dem Waschen zubereiteten Substrat (10 mg 1,2 Phenylendiamin + 10 ml Phosphatpuffer pH 6,0 + 10 μl H₂O₂ (30 %)), das während des Waschens in braunen Fläschchen dunkel aufbewahrt wurde, wurden mit einer 12-Kanalpipette 100 μl einpipettiert. Exakt nach 15 Minuten Inkubation bei Zimmertemperatur in dunkler Kammer wurde die enzymatische Reaktion gestoppt durch das Hinzufügen von 100 μl 2 M H₂SO₄. Nach dem gründlichen Mischen wurde die Extinktion bei 510 nm im Titertek Multiskan Photometer zweimal gegen den Leerwert (100 μl Substrat + 100 μl 2 M H₂SO₄) in der ersten Reihe der Mikrotiterplatten gemessen. Alle Bestimmungen erfolgten doppelt. Von den Doppelbestimmungen und dem zweimaligen Ablesen wurden dann die Mittelwerte ermittelt.

Als Kontrollen unspezifischer Reaktionen wurden bei jedem Test mitgeführt:

1. ohne Antigen, Serum in der Verdünnung 1:10²
2. Antigen, jedoch statt Serum PBS
3. nur Konjugat, kein Antigen und kein Serum.

Als positive Serumkontrolle wurde bei jedem Ansatz ein Patientenserum mitgeführt, dessen hoher Antikörpergehalt aus früheren Versuchen bekannt war.

Als negative Kontrolle wurde bei jedem Test das Kinderserum in den gleichen Verdünnungen wie die Patientenseren mitgeführt.

Von jedem Serum wurde in sämtlichen Verdünnungen der Quotient $E_{\text{Patientenserum}}/E_{\text{negatives Kinderserum}}$ berechnet.

2.2.3.4. Kapsel-Mischantigen

Um in Zukunft in der Diagnostik schneller eine Aussage über die Immunitätslage eines Patienten bei *K. pneumoniae* Isolierung aus dem Untersuchungsmaterial machen zu können, ohne vorher vom Patientenstamm erst das K-Antigen präparieren zu müssen bzw. den Patientenstamm erst zu serotypisieren, wurde versucht, ein Mischantigen zu poolen. Dieses Mischantigen aus häufigen K-Serotypen sollte mit den aus der Quellungsreaktion und der Gegenstromimmunelektrophorese bekannten Kreuzreaktionen ermöglichen, möglichst viele der gegen die 77 K-Serotypen möglichen Antikörper in den Patientenseren nachzuweisen.

Es wurde ein Pool von sieben K-Antigenen, die von Patientenstämmen präpariert worden waren, gemischt:

K 2 (V.6034), K 3 (V.2276), K 7 (V.1879), K 13 (Nr. 4153), K 28 (Str. 215), K 55 (V.485), K 74 (V.2914)

Unter den 42 Patienten hatten 16 Patienten einen Serotyp von den oben sieben genannten unter ihren Stämmen, d. h. 40,5 % der Patienten könnten mit dem Mischantigen erfolgreich getestet werden.

Berücksichtigt man alle Stammissolierungen, so waren die sieben Serotypen mit 47,1 % darunter vertreten. Bei diesen Zahlen sind die möglichen Kreuzreaktionen noch nicht berücksichtigt, da Kreuzreaktionen, die in anderen Testsystemen auftraten, sich nicht unbedingt im ELISA zeigen müssen. Die oben genannten Zahlen korrespondieren mit denen von BAUERNFEIND (unveröffentlicht). Hier gehören die obigen Serotypen auch zu den unter 259 isolierten Klebsiellen am häufigsten vorkommenden Serotypen. Alle sieben machten dort 37,5 % aus.

Anstatt der sonst im ELISA üblichen Konzentration von 50 $\mu\text{g/ml}$ Antigen wurden mit den sieben Antigenen im Mischantigen eine Gesamtkonzentration von 100 $\mu\text{g/ml}$ verwendet (die Antigentitrationskurven zeigten meist erst bei höheren Konzentrationen, wenn überhaupt, ein Abfallen der Extinktion). Der Anteil der einzelnen Antigenkomponente betrug jeweils 14,3 $\mu\text{g/ml}$.

Ob dieser geringere Anteil ausreicht, im ELISA vergleichbare Reaktionen zu zeigen, wurde mit verschiedenen Patientenseren mit hohem und niedrigem Antikörpergehalt untersucht.

Dieses System aus sieben gemischten K-Antigenen wurde auch zur Ermittlung der K-Antikörpertiter bei gesunden erwachsenen Kontrollpersonen verwendet.

2.2.3.5. Kreuzreaktionen im ELISA und Absorptionsversuche

2.3.3.5.1. Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene

Um eine Aussage über die Spezifität des ELISA machen zu können, wurde eine Reihe von hochtitrigen Patientenseren mit den Bestandteilen des K-Mischantigens (K 2, K 3, K 7, K 13, K 28, K 55, K 74) getestet in allen drei Immunglobulinfraktionen.

2.2.3.5.2. Kreuzreaktionen zwischen K-Antigenen von *Klebsiella pneumoniae* und verschiedenen O-Antigenen von *Escherichia coli*

Da in der Literatur Kreuzreaktionen zwischen *Klebsiellen* und *E. coli* [90, 115] beschrieben sind, wurden einige Patientenseren mit teils hohen, teils niedrigen homologen Antikörpertitern im ELISA auf Antikörper gegen gereinigtes Lipopolysaccharid von *E. coli* getestet. Zur Präparation der Lipopolysaccharide wurden die häufig bei Harnwegsinfekten isolierten Serotypen *E. coli* O 2, O 4, O 6, O 7 und O 75 und als Kontrolle der eher seltene *E. coli* O 55 verwendet. Um zu untersuchen, ob es sich bei hohen Titern im LPS-ELISA wirklich um Kreuzreaktionen handelt und nicht um Titer durch vorausgegangene Infektionen mit *E. coli*, wurde bei einigen Patienten ein heterologer und ein homologer Antikörperverlauf im ELISA bestimmt.

Bevor der LPS-ELISA durchgeführt werden konnte, mußten erst durch Antigentitrationsen die optimalen O-Antigen Konzentrationen zum Coaten ermittelt werden, da ein anderes Bindungsverhalten verglichen mit den K-Antigenen nicht auszuschließen war.

Da wir kein humanes Antiserum gegen *E. coli* LPS zur Verfügung hatten, haben wir versucht, mit unseren Patientenserum die Antigentitrations durchzuführen.

2.2.3.5.3. Absorption eines Patientenserums mit homologen Antikörpern gegen K 13 an einen heterologen Stamm von *Klebsiella pneumoniae* K 3

Um zu sehen, ob es sich bei den Reaktionen des Serums des Patienten 18 mit den Bestandteilen des Mischantigens wirklich um strukturbedingte Kreuzreaktionen des Serums mit den heterologen K-Antigenen handelt oder um unspezifische Reaktionen, wurde folgender Absorptionsversuch durchgeführt:

Eine Flüssigkultur des Serotyppreferenzstammes K 3 in TSB wurde bei 32 °C und 125 Upm im Schüttler geschüttelt, bis in der logarithmischen Phase eine optische Dichte von ungefähr 1,000 erreicht war. Die Suspension wurde dann auf optische Dichte 1,000 (10^9 KB/ml) eingestellt. Zu 1,8 ml der Suspension wurden 0,2 ml konzentriertes Patientenserum (Patient 18/Serumprobe vom 18.2.1980/isolierter Stamm Serotyp K 13) gegeben. Nach über Nacht Inkubation bei 4 °C wurde zunächst 45 Minuten bei 8000 Upm zentrifugiert. Da der Überstand danach aber noch nicht ganz klar war, wurde eine zweite 15 minütige Zentrifugation bei 10000 Upm angeschlossen.

250 µl des jetzt klaren Überstandes wurden mit 2,25 ml PBS + 3 % Tween^R 20 + 1 % BSA gemischt, so daß eine Serumverdünnung des absorbierten Serums von $1:10^2$ resultierte. In gewohnter Weise wurde dann weiter verdünnt, so daß die Serumverdünnungen $1:10^3$ und $1:10^4$ erreicht wurden.

Im Ig G und Ig M - ELISA wurde dann der Antikörpergehalt des Patientenserums vor und nach Absorption an intakte Bakterien des K-Serotyps 3 gegen homologes K-Antigen K 13 und gegen die heterologen Bestandteile des Mischantigens bestimmt.

2.2.3.5.4. Absorption an heterologes Kapsel-Mischantigen unter ELISA-Bedingungen

Um die Absorptionsbedingungen des Serums den ELISA-Bedingungen anzugleichen, wurde ein zweiter Absorptionsversuch durchgeführt: Serum des Patienten 18 vom 18.2.1980 wurde in den 3 Serumverdünnungen $1:10^2$, $1:10^3$ und $1:10^4$ fünfmal hintereinander jeweils eine Stunde bei 37 °C in feuchter Kammer mit dem Kapsel-Mischantigen (ohne das homologe K 13-Antigen, Konzentration daher nur 85,7 µg/ml), das über Nacht an den Kunststoff der Mikrotiterplatten gecoatet worden war, inkubiert. Zuvor waren die Mikrotiterplatten in gewohnter Weise dreimal mit 200 µl PBS + 0,05 % Tween^R 20 gewaschen worden, um überschüssiges nicht gebundenes Antigen zu entfernen.

Es wurden zunächst vier Vertiefungen pro Serumverdünnung mit 250 µl der entsprechenden Verdünnungen gefüllt. Nach jedem Absorptionsschritt wurden die Seren vorsichtig abpipettiert und in die nächsten mit Mischantigen gecoateten Vertiefungen überführt. Nach der ersten, dritten und fünften Absorption wurden aus den vier Vertiefungen jeweils 50 µl verwendet, um die absorbierten Seren auf verbleibende Antikörper gegen das homologe Antigen K 13 und das heterologe Mischantigen in allen Serumverdünnungen zu testen; d. h. zur ersten Absorption standen 250 µl pro mit Antigen gecoatete Vertiefung zur Verfügung, zur zweiten und dritten

jeweils 200 µl, zur vierten und fünften nur noch 150 µl Serum.

Der Test wurde einmal für den Ig G und einmal für den Ig M ELISA durchgeführt.

2.2.4. Bestimmung homologer Antikörper gegen K-Antigen von *Klebsiella pneumoniae* in der Gegenstrom-immunelektrophorese

Die Methode der Gegenstromimmunelektrophorese fand nicht nur zur K-Serotypisierung der Klebsiellen Verwendung, sondern auch zum Messen spezifischer Antikörper gegen K-Antigen in den Patientenseren, um einen Vergleich zwischen der Sensitivität des ELISA und der Gegenstromimmunelektrophorese ziehen zu können.

Als Antigen verwendeten wir sowohl eine einfache Bakteriensuspension in physiologischer Kochsalzlösung einer frischen Kultur auf Mac Conkey oder Worfel-Ferguson Agar mit der optischen Dichte von 0,100 und 0,200 (10^8 bzw. 2×10^8 KB/ml), als auch gereinigtes K-Antigen in den Konzentrationen von 10 µg/ml und 100 µg/ml. Die Patientenseren wurden in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und regelmäßig von konzentriert bis 1:16 austitriert. Nur bei positiver Präzipitation bei 1:16 wurden die Seren weiter verdünnt. Als Agarosegel wurde eine 1 % Agarose (Verhältnis Agarose B/C = 3:1) verwendet. Puffer, Stromstärke und Spannung blieben genauso wie bei der K-Serotypisierung.

Die Laufzeit wurde bei der Antikörperbestimmung verlängert bis auf 60 Minuten, wobei nach 30 bzw. 45 Minuten bereits vorsichtig nach Präzipitaten gesucht wurde.

Als negative Kontrollen, um unspezifische Reaktionen von spezifischen differenzieren zu können, wurde jedes Serum auch gegen eine sicher heterologe Suspension von

Klebsiellen der optischen Dichte 0,100 und 0,200 sowie gegen gereinigtes K-Antigen des heterologen Serotyps in den Konzentrationen 100 µg/ml und 10 µg/ml getestet.

2.2.5. Antikörpertiter-Bestimmung mit der passiven Hämagglutination

2.2.5.1. Passive Hämagglutination mit durch CrCl_3 an Erythrozyten gekoppelten K-Antigenen

Homologe und heterologe Titer im Patientenserum gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* wurden in einem modifizierten passiven Hämagglutinationstest nach ERIKSEN [43] bestimmt.

Getestet wurden neun Patientenseren, sechs mit hohen Titern und drei mit niedrigen Titern im indirekten ELISA.

0,25 ml einer 4 % Human Erythrozytensuspension der Blutgruppe O Rh + (Behring) wurden 10 Minuten bei 3000 Upm in der Ecco Laborzentrifuge zentrifugiert, der Überstand vorsichtig abpipettiert. Zum Sediment wurden 40 µl einer physiologischen Kochsalzlösung gegeben, die das nach NIMMICH [114] gereinigte K-Antigen in einer Konzentration von 2 mg/ml enthielt, und 40 µl einer kurz zuvor frisch zubereiteten 0,2 % CrCl_3 Lösung in physiologischer Kochsalzlösung. Nach gründlichem Mischen wurde die Suspension in einer dunklen Kammer für fünf Minuten bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurden die gecoateten Erythrozyten zweimal gewaschen mit jeweils 1 ml physiologischer Kochsalzlösung und zum Schluß in 1 ml physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert, so daß eine 1 % Antigen-Erythrozytensuspension in physiologischer Kochsalzlösung als Antigen für den Test resultierte.

Die Seren, die dreißig Minuten bei 56 °C im Wasserbad zur Inaktivierung des Komplements erhitzt worden waren, wurden in physiologischer Kochsalzlösung + 0,2 % BSA verdünnt. Die Antikörpertitration erfolgte in U-förmigen Mikrotiterplatten (Dynatech). Es wurden 25 µl physiologische Kochsalzlösung + 0,2 % BSA vorgelegt, außer in der ersten Reihe, in die 50 µl 1:40 verdünnten Serums einpipettiert wurde. Dann wurden 25 µl von der ersten Reihe in die zweite übertragen, gut gemischt, von dort aus 25 µl in die dritte Reihe übertragen usw. bis zur letzten Reihe, bis eine Endverdünnung von 1:81920 resultierte. Aus der letzten Reihe wurden 25 µl verworfen.

Anschließend wurde mit einer 25 µl Tropfpipette die Antigen-Erythrozytensuspension aufgetropft und nach gutem Mischen auf dem Titertek^R Mischer wurden die Platten über Nacht bei 4 °C aufbewahrt, wobei man jedoch nach zwei Stunden leicht den Endpunkt bestimmen konnte. Als negative Kontrolle wurden in diesem System verwendet:

1. 25 µl physiologische Kochsalzlösung (+ 0,2 % BSA) + 25 µl 1 % unbehandelte Erythrozytensuspension
2. 25 µl Patientenserum 1:40 verdünnt + 25 µl 1 % unbehandelte Erythrozytensuspension
3. 25 µl physiologische Kochsalzlösung (+ 0,2 % BSA) + 25 µl 1 % Antigen-Erythrozytensuspension.

Die Antikörpertitration erfolgte immer im Rahmen einer Doppelbestimmung und, falls es die Serummenge zuließ, wurde die Titration am folgenden Tag wiederholt.

2.2.5.2. Bestimmung der Antikörpertiter im Patientenserum gegen *Klebsiella pneumoniae* und *Escherichia coli* in der passiven Hämagglutination

Um zu sehen, ob für eine aussagekräftige Antikörperbestimmung sowohl in der passiven Hämagglutination als auch im ELISA wirklich eine so aufwendige Antigenpräparation nach NIMMICH [114] erforderlich ist, wurde die passive Hämagglutination nach einer zweiten Methode durchgeführt, bei der das Antigen, wie unter 2.2.2.3. beschrieben, im wesentlichen aus einer autoklavierten und dann zentrifugierten Bakteriensuspension besteht. Dieses Antigen wurde von *E. coli* 0 1, 0 2, 0 4, 0 6, 0 7, 0 14, 0 55, 0 75 präpariert, von Klebsiellen mit einem K-Serotyp, der im Mischantigen vorkam, und von noch einem weiteren Patientenstamm V.094 (K 35).

Der Test folgte modifiziert der Methode von ADAM [1].

Aus Humanerythrozyten der Blutgruppe O Rh + (4 %, Behring) wurde in physiologischer Kochsalzlösung eine 0,2 % Lösung hergestellt. Die Erythrozyten wurden mit der gleichen Menge Antigen versetzt, so daß eine 0,1 % Suspension entstand. Diese Mischung wurde 30 Minuten bei 37 °C im Wasserbad gehalten, danach dreimal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, um überschüssiges Antigen zu entfernen, schließlich zu einer 0,1 % Suspension resuspendiert.

Die Serumverdünnung erfolgte wie unter 2.2.5.1. beschrieben.

Die Antikörpertitration erfolgte wieder im Rahmen einer Doppelbestimmung mit Wiederholung am nächsten Tag. 25 µl von der 0,1 % Antigen-Erythrozytensuspension wurden mit Tropfpipette aufgetragen. Nach gründlichem Mischen wurden die Mikrotiterplatten 30 Minuten bei 37 °C in feuchter Kammer inkubiert. Danach blieben sie

über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank. Am nächsten Tag wurden die Titer abgelesen.

Als negative Kontrollen dienten:

1. 25 µl physiologische Kochsalzlösung (+ 0,2 % BSA) + 25 µl 0,1 % unbehandelte Erythrozyten
2. 25 µl Patientenserum 1:40 verdünnt + 25 µl 0,1 % unbehandelte Erythrozyten
3. 25 µl physiologische Kochsalzlösung (+ 0,2 % BSA) + 25 µl 0,1 % Antigen-Erythrozytensuspension.

2.2.6. Rheumafaktorbestimmung und Versuch der Rheumafaktorabsorption

Von allen Patienten wurde die erste Serumprobe mit dem Latex RF Reagenz (Behring Institut, Marburg) entsprechend der Anleitung des Herstellers auf das Vorhandensein des Rheumafaktors hin untersucht. Bei einer positiven Serumprobe wurde der Rheumafaktor durch weitere Serumverdünnungen austritiert und auch die weiteren Serumproben des Patienten auf den Rheumafaktor hin untersucht.

Um im indirekten ELISA den Störfaktor Rheumafaktor bei der spezifischen Antikörperbestimmung der Immunglobuline Ig M und Ig G zu eliminieren, wurde bei den Rheumafaktor positiven Seren eine Absorption der Seren an Latexpartikel nach ZIOLA et al. [166] versucht, und danach der ELISA mit den Seren vor und nach Rheumafaktorabsorption durchgeführt:

Zur Rheumafaktorabsorption an Latexpartikel wurden 20 µl des konzentrierten Serums zu 780 µl 1:10 in Glycinpuffer verdünntem Latex RF Reagenz gegeben und nach gründlichem Mischen über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Am nächsten Tag wurden die Eppendorfreaktionsgefäße in der Eppendorffzentrifuge fünf

Minuten zentrifugiert. Der abpipettierte Überstand (entspricht Serumverdünnung 1:40) wurde in PBS + 3 % Tween^R 20 + 1 % BSA so verdünnt, daß die üblichen Serumverdünnungen 1:10², 1:10³ und 1:10⁴ entstanden. Der Ig A, Ig G und Ig M ELISA wurde danach in gewohnter Weise durchgeführt, wobei in einem Ansatz die Serumproben vor und nach der Rheumafaktorabsorption auf den Gehalt an homologen Antikörpern gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* getestet wurden.

2.2.7. Immunglobulinbestimmung

Um eine Aussage über eine eventuelle humorale Abwehrschwäche des Patienten machen zu können, wurden von jedem Patienten in der ersten Serumprobe die Konzentrationen von Ig A, Ig G und Ig M mit Hilfe der radialen Immundiffusion (Tri Partigen^R, Behring Institut, Marburg) bestimmt.

Die Versuche wurden entsprechend der Anleitung des Herstellers durchgeführt unter Mitnahme von Referenzseren zur Ermittlung einer Eichkurve und unter Mitnahme eines Kontrollserums mit bekannten Immunglobulinkonzentrationen.

3. Ergebnisse

3.1. Typisierung der Patientenisolate nach Biotyp, Serotyp und Antibiotyp

Um einen möglichen Typwechsel unter den Klebsiella-Isolaten eines Patienten erkennen zu können, wurden alle Stämme der Patienten typisiert.

Die Ergebnisse der K-Serotypie, Biotypie und Bakteriozintypie sind in Tab. 2 (S. 177 - 183) dargestellt.

Unter den Patientenstämmen (n = 102) waren 27 K-Serotypen vertreten; 10 Stämme waren nicht K-serotypisierbar. Wird von jedem Patienten jeder K-Serotyp nur einmal berücksichtigt, dann folgen nach Häufigkeit K 2 (5x), K 28, K 35, K 55 und K 74 (jeweils 3x), K 10, K 20 und K 53 (jeweils 2x). Alle anderen Serotypen waren nur einmal vertreten.

Unter den Patientenstämmen traten sieben verschiedene Biotypen auf:

Biotyp 1 - Api Nr. 5215773

Biotyp 2 - Api Nr. 5255773 (Indol +)

Biotyp 3 - Api Nr. 5245773 (Indol +, Urease -)

Biotyp 4 - Api Nr. 1215773 (Lysin-dekarboxylase -)

Biotyp 5 - Api Nr. 5255573 (Indol +, Inosit -)

Biotyp 6 - Api Nr. 1255773 (Indol +,
Lysin-dekarboxylase -)

Biotyp 7 - Api Nr. 5355773 (Indol +,
Ornithin-dekarboxylase +)

Biotyp 1 war mit 69 % der am häufigsten beobachtete Biotyp.

Bei der Bakteriozintypie (vgl. Tab. 2, S. 177 ff) geben die Zahlen die Hemmbarkeit des getesteten Stammes durch das Bakteriozin eines bestimmten Producers an:

- | | |
|-----------------------|--------------------------|
| 1: hemmbar durch K 1 | 5: hemmbar durch K 44 |
| 2: hemmbar durch K 17 | 6: hemmbar durch Nr. 96 |
| 3: hemmbar durch K 23 | 7: hemmbar durch Nr. 168 |
| 4: hemmbar durch K 24 | 8: hemmbar durch Nr. 207 |

Bei der Wahl der breakpoints für Antibiotikaresistenz wurden die DIN Normen 58940 berücksichtigt.

Als Resultat dieser epidemiologischen Analysen wurde bei 4 der 42 Patienten (9,5 %) ein Typwechsel im K-Serotyp gefunden, der sich bei 3 Patienten auch in einer Biotypänderung zeigte.

Bei Patient 2 mit Prostataadenom und Hydronephrose beidseits konnte im Dezember 1979 zweimal *K. pneumoniae* mit Serotyp K 31, Bakteriozintyp 1 2 3 und Biotyp 1 isoliert werden. Bei späteren Urinproben im Januar und Februar 1980 wurde dreimal *K. pneumoniae* mit Serotyp K 53, Bakteriozintyp 3 4 6 und ebenfalls dem Biotyp 1 gefunden. Für den spezifischen Antikörpernachweis gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* im ELISA war es daher notwendig, von diesen beiden Serotypen K-Antigen zu präparieren.

Bei Patient 11 wurden zuerst im Januar 1980 zweimal *K. pneumoniae* mit Serotyp K 55, Bakteriozintyp 3 und Biotyp 2 aus dem Urin nachgewiesen. Der in einer Probe Anfang Februar 1980 isolierte Stamm (V.3458) war nicht K-serotypisierbar. Dieser Typwechsel zeigte sich auch im Wechsel des Biotyps (jetzt 1) und veränderter Bakteriozinempfindlichkeit (jetzt Hemmuster 1 2 3 4 5 6 7). Anfang Mai 1980 konnte aus einem Rachenabstrich erneut ein anderer Typ isoliert werden mit Serotyp K 54, Biotyp 1 und Bakteriozintyp 3 8. Da dieser Stamm erst nach

der letzten Serumprobe und auch nur einmal isoliert wurde, wurden nur von den ersten beiden Typen K-Antigene für den ELISA präpariert.

Bei Patient 13 mit Pneumonie wurde zuerst ein Stamm mit Serotyp K 16 und Biotyp 2 aus dem Sputum isoliert. Zehn Tage später wurde ein nicht zu serotypisierender Stamm mit Biotyp 1 aus dem Sputum isoliert, der über fast drei Monate immer wieder gefunden werden konnte. Im Bakteriozintyp zeigte sich dieser Wechsel bei gleichbleibendem Hemmuster (1 3 4 5 6) nicht.

Bei Patient 22 mit Platzbauch und Pneumonie postoperativ wurde Anfang Februar 1980 aus der Bauchwunde zweimal *K. pneumoniae* vom Serotyp K 74, Biotyp 6 und Bakteriozintyp 2 nachgewiesen. Zwei Monate später wurde aus Urin und der noch offenen Bauchwunde zweimal ein Stamm mit dem häufigsten Biotyp 1 und dem Serotyp K 20 und Bakteriozintyp 1 2 3 isoliert. Dieser Typwechsel zeigte sich auch im Antibiotogramm durch zusätzliche Resistenz bei Carbenicillin, Ticarcillin und Azlocillin.

Durch diese epidemiologischen Analysen konnten wir auch zeigen, daß bei Patient 27 mit chronischer Bronchitis bei Bronchiektasen der im November 1978 aus dem Sputum bei einer *Klebsiella pneumoniae*-*Proteus mirabilis* Pneumonie isolierte Stamm V.32114 im K-Serotyp, Biotyp, Bakteriozintyp und Antibiotyp völlig übereinstimmte mit den Stämmen, die mehr als ein Jahr später im Januar und März 1980 aus dem Sputum nachgewiesen werden konnten.

3.2. Optimierung des indirekten ELISA

3.2.1. Bestimmung der Testantigenkonzentration im ELISA

3.2.1.1. K-Antigenkonzentration

Um die optimale K-Antigenkonzentration zum Coaten der Mikrotiterplatten im indirekten ELISA zu bestimmen, wurden K-Antigentitrationsen mit steigender Konzentration von 0,01 (bzw. 0,1) bis 1000 (bzw. 500) $\mu\text{g/ml}$ bei gleichbleibender Serumverdünnung durchgeführt. Derartige Antigentitrationsen für den Ig G ELISA zeigen Abb. 1 - 3 (S. 120 - S. 122). Die anderen Immunglobulinfraktionen verhielten sich vergleichbar.

Es zeigte sich kein einheitliches Bild für optimale K-Antigenkonzentrationen.

Bei V.32365 (K 55) und V.6601 (nicht K-serotypisierbar) wurde ein Optimum bis zu einer Konzentration von 500 $\mu\text{g/ml}$ nicht erreicht. Ein linearer Anstieg fand sich bis 500 $\mu\text{g/ml}$. Bei V.2760 (K 79) stieg die Extinktion linear an von 1 $\mu\text{g/ml}$ bis zu einem Plateau um 500 $\mu\text{g/ml}$. Bei V.6034 (K 2) und Nr. 4153 (K 13) wurden hochtitrige Patientenserum zur Antigentitration verwendet; dabei zeigte sich ein Maximum der Extinktion bereits bei 10 $\mu\text{g/ml}$; bei höheren Konzentrationen war eine Abnahme der Extinktion zu beobachten, bei K 13 wesentlich ausgeprägter als bei K 2. Bei V/8080 (K 71) lag das Optimum bei 50 $\mu\text{g/ml}$. Bei höheren Antigenkonzentrationen erfolgte ein geringes Absinken der Extinktion.

Als geeignete K-Antigenkonzentration zum Coaten wurde zur Vereinheitlichung des Testes 50 $\mu\text{g/ml}$ gewählt. Diese Konzentration liegt bei einigen Antigenen wohl im optimalen Bereich, bei anderen sicher im linearen Bereich der Titrationskurve. DAHLBERG und BRANEFORS [31],

die bei K-Antigen von *Haemophilus influenzae* Typ b im ELISA einen linearen Anstieg der Extinktion bis 10 µg/ml, dann ein Abknicken der Kurve mit weiterem Anstieg zum Optimum bei 50 µg/ml und bei weiterem Erhöhen der Antigenkonzentration ein Absinken der Extinktion beobachteten, wählten für ihren ELISA die Konzentration im Optimum von 50 µg/ml. ENGVALL und PERLMANN [41], CRYZ et al. [27], KEREN [91], HOLMGREN und SVENNERHOLM [79], und ROTE et al. [133] fanden in ihren Antigentitrationsen mit präpariertem Lipopolysaccharid, Proteinantigenen oder ganzen Zellen von *Vibrio cholerae*, ausgeprägte Maxima mit Absinken der Extinktion bei höheren Konzentrationen. Sie wählten für ihre Tests ebenfalls die Antigenkonzentration mit der höchsten Extinktion im ELISA. Dagegen entschieden sich MANSHEIM und KASPER [102], die einen ELISA für Antikörper gegen Kapselantigen von *Bacteroides asaccharolyticus* entwickelten, für die Antigenkonzentration von 5 µg/ml im linearen Bereich der Kurve.

3.2.1.2. O-Antigenkonzentration

Da nicht auszuschließen war, daß die O-Antigene von *E. coli* eine andere Bindung an den Boden der Mikrotiterplatten aus Immulon^R (Polystyrol) zeigen als die K-Antigene von *K. pneumoniae*, wurden auch mit einigen *E. coli* Lipopolysacchariden Antigentitrationsen durchgeführt von 0,01 bis 1000 µg/ml. Da kein Erwachsenenserum mit einem hohen Antikörpertiter gegen Lipopolysaccharid von *E. coli* zur Verfügung stand, verwendeten wir für die Titration einige unserer Patientenserum mit Klebsiellainfektion in der Anamnese.

Die Ergebnisse für *E. coli* O 55 und *E. coli* O 7 zeigt Abb. 4 (S. 123).

Ein linearer Anstieg der Extinktion zeigte sich ab $1 \mu\text{g/ml}$ bei *E. coli* O 55 und *E. coli* O 7. Bei *E. coli* O 7 ging der lineare Anstieg bis $50 \mu\text{g/ml}$. Danach zeigte die Kurve ein deutliches Abknicken nach einem Maximum bei $500 \mu\text{g/ml}$. Erst bei einer Konzentration über $500 \mu\text{g/ml}$ fiel die Extinktion ab. Als Antigenkonzentration für den *E. coli* Lipopolysaccharid-ELISA wurde dann $50 \mu\text{g/ml}$ gewählt. Mit dieser Konzentration würde man bei *E. coli* O 55 im linearen Bereich liegen.

3.2.2. Optimieren der Verdünnungen der Anti Human Ig A/ Ig G/ Ig M Peroxidase Konjugate

Um die optimale Verdünnung der Peroxidasekonjugate zu bestimmen, wurden von den Konjugaten Verdünnungsreihen von 1:200 bis 1:2000 angelegt. Ein hochtitriges Patientenserum wurde in den Serumverdünnungen $1:10^2$, $1:10^3$ und $1:10^4$ bei gleichbleibender Antigenkonzentration von $50 \mu\text{g/ml}$ auf seinen Gehalt an spezifischen Antikörpern gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* getestet.

Gesucht wurde die Konjugatverdünnung, bei der der Quotient $E_{\text{pat.S.}}/E_{\text{neg.S.}}$ am größten war.

Bei der Anti Human Ig A Peroxidase Konjugattitration (Abb. 5, S. 124) zeigte sich der größte Unterschied zwischen dem positiven Erwachsenenserum und dem negativen Kinderserum bei der Verdünnung 1:800.

Beim Anti Human Ig G Peroxidase Konjugat (Abb. 6, S. 125) lag das Optimum bei der Verdünnung 1:1000.

Das Anti Human Ig M Peroxidase Konjugat zeigte auch bei mehreren Ansätzen mit verschiedenen Patientenseren kein klares Optimum (Abb. 7, S. 126). Wir entschieden uns für eine Verdünnung von 1:200.

3.3. Nachweis homologer Antikörper gegen K-Antigen von *Klebsiella pneumoniae* im ELISA

3.3.1. Titerbestimmung gesunder erwachsener Kontrollpersonen mit dem K-Mischantigen

Da es sich zeigte, daß mit Verwendung des K-Mischantigens aus sieben häufigen Serotypen (K 2, K 3, K 7, K 13, K 28, K 55 und K 74) bei fünf Patientenseren dem einzelnen homologen Antigen vergleichbare Reaktionen im ELISA (Tab. 3, S. 184) zu erzielen waren, trotz niedrigerer Konzentration der einzelnen Komponenten, ist es möglich, in Zukunft in der Diagnostik schnell eine Aussage über die humorale Abwehrlage bei *Klebsiella* Isolierungen und die ätiologische Bedeutung der Isolate zu bekommen. Dazu wäre es allerdings nötig, noch ein zweites und eventuell ein drittes Mischantigen zu poolen, um Antikörper gegen noch mehr K-Serotypen (bisher um 40 %) nachweisen zu können.

Die Extinktionen des negativen Kinderserums unterschieden sich bei Verwenden des K-Mischantigens oder der einzelnen Komponenten nicht wesentlich.

Um kritische Grenzen zwischen positiven und negativen Seren bei den Patientenseren zu finden, wurden deshalb acht gesunde Erwachsene auf Antikörper gegen das K-Mischantigen im Ig A, Ig G und Ig M ELISA getestet.

Abb. 8 (S. 127) zeigt das Ergebnis.

Alle Probanden zeigten im Ig A ELISA in der Serumverdünnung $1:10^2$ kleinere Quotienten als 2,0. Die Extinktion betrug im Durchschnitt $0,216 \pm 0,029$, der Quotient $1,381 \pm 0,230$. Die kritische Grenze im Ig A ELISA zogen wir folglich bei 2,0.

Im Ig G ELISA ergab sich eine größere Streuung. Die Extinktion der Probanden war im Durchschnitt $0,552 \pm 0,114$, der Quotient $1,805 \pm 0,424$. Alle Probanden

blieben in der Serumverdünnung $1:10^2$ unter dem Quotienten 2,5, den wir daher als Grenzwert genommen haben. Im Ig M ELISA war die mittlere Extinktion $0,335 \pm 0,067$. Der Mittelwert der bei den Probanden gefundenen Quotienten betrug $1,581 \pm 0,265$. Die gefundenen Quotienten blieben bei allen Probanden unter 2,0, so daß wir die Seren mit einem Quotienten größer/gleich 2,0 als positiv betrachteten.

3.3.2. Bestimmung der Antikörpertiter von 42 Patienten gegen K-Antigen von Klebsiella pneumoniae im ELISA

Die Patientenserum wurden mit reinpräparierten K-Antigenen derjenigen Stämme getestet, die aus dem Untersuchungsmaterial isoliert worden waren. Gleichzeitig wurde mit dem gleichen K-Antigen ein negatives Kinderserum eines zwei Monate alten Säuglings untersucht. Jedes Serum wurde in den drei Verdünnungen $1:10^2$, $1:10^3$ und $1:10^4$ getestet. Aus den bei 510 nm gemessenen Extinktionen wurde der Quotient $E_{\text{Patienten S.}}/E_{\text{Neg. S.}}$ berechnet.

Bei Patienten mit mehreren Serumproben wurde darauf geachtet, daß alle Serumproben am gleichen Tag im ELISA getestet wurden.

Die gemessenen Extinktionen und berechneten Quotienten der 122 Patientenserum in den drei Verdünnungen sind in Tab. 4 (S. 185 - 202) dargestellt.

Im Ig A ELISA ergab sich als Mittelwert aller Serumproben in der Verdünnung $1:10^2$ die Extinktion $0,484 \pm 0,323$ und der Quotient $2,902 \pm 1,728$.

Die mittlere Extinktion im Ig G ELISA war 0,890 0,481. Der mittlere Quotient betrug $3,222 \pm 1,773$.

Im Ig M ELISA errechnete sich als Mittelwert der Extinktion in der Serumverdünnung $1:10^2$ $0,474 \pm 0,240$ und als Mittelwert der erreichten Quotienten $2,738 \pm 1,377$.

Wertet man die Serumproben positiv, die im Ig A einen Quotienten größer bzw. gleich 2,0, im Ig G größer bzw. gleich 2,5 und im Ig M größer bzw. gleich 2,0 aufweisen, so waren acht von 42 Patienten (19,0 %) in allen drei Immunglobulinklassen negativ.

In allen drei Immunglobulinklassen positiv waren 16 Patienten (38,1 %). Sechs Patienten (14,3 %) waren allein im Ig G negativ, vier Patienten (9,5 %) allein im Ig M und drei Patienten (7,1 %) im Ig A negativ.

Drei Patienten (7,1 %) waren sowohl im Ig A als auch im Ig G negativ, zwei Patienten (4,8 %) sowohl im Ig G als auch im Ig M.

Betrachtet man die Antikörpertiter von den Immunglobulinklassen aus, so waren im Ig A 28 Patienten (66,7 %), im Ig G 23 Patienten (54,8 %) und im Ig M 28 Patienten (66,7 %) positiv.

Im Gegensatz zu HAND und SMITH [58], die feststellen, daß K-Antigene vor allem Antikörper der Klasse Ig M induzieren, konnten wir in allen drei getesteten Immunglobulinklassen Antikörper gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* nachweisen.

3.3.3. Zusammenhang zwischen Infektionsort und Titerhöhe im ELISA

Der Zusammenhang zwischen Infektionsort und Titerhöhe im Ig A, Ig G und Ig M ELISA ist in den Abb. 9 - 11 (S. 128 - S. 130) dargestellt.

Faßt man alle fünf Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus der Blutkultur ohne/mit Isolierung

von *K. pneumoniae* aus anderen Untersuchungsmaterialien zusammen, so waren von diesen Patienten alle im Ig A und Ig M positiv. Im Ig G waren nur drei von den fünf Patienten positiv. Von den beiden Patienten, bei denen nur aus der Blutkultur *K. pneumoniae* isoliert werden konnte, waren beide im Ig A und Ig M positiv, aber nur einer im Ig G.

Von den 21 Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Urin ohne/mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus anderem Untersuchungsmaterial waren 16 (76 %) im Ig A, 15 (71 %) im Ig M und 13 (62 %) im Ig G positiv. Zwei Patienten von den 21 (9,5 %) waren im ELISA in allen getesteten Immunglobulinklassen negativ. Von den 15 Patienten, bei denen nur im Urin *K. pneumoniae* nachgewiesen wurde, waren 12 (80 %) im Ig M, 11 (73 %) im Ig A und 10 (67 %) im Ig G positiv.

Von den 19 Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Sputum ohne/mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus anderem Untersuchungsmaterial waren zehn (53 %) im Ig A, acht (42 %) im Ig G und sieben (37 %) im Ig M positiv. Sieben Patienten von den 19 (39 %) waren im ELISA in allen getesteten Immunglobulinklassen negativ. Von den 15 Patienten mit *K. pneumoniae*-Nachweis nur aus dem Sputum waren acht (53 %) im Ig A und jeweils sieben (47 %) im Ig G bzw. Ig M positiv.

3.3.4. Dynamik der Antikörperbildung gegen K-Antigen von *Klebsiella pneumoniae* im ELISA

Abb. 12 - 20 veranschaulichen die Antikörperverläufe einiger Patienten.

Bei Patient 2 (Abb. 12, S. 131) mit Hydronephrose beidseits bei Prostataadenom war zwei Tage nach der ersten Isolierung von *K. pneumoniae* Serotyp K 31 der Antikör-

pernachweis im Ig M bereits positiv, während der Ig A und Ig G ELISA negativ ausfielen. Eine Woche später wurde dann das Maximum der Antikörper gegen K 31 in allen drei Immunglobulinfraktionen erreicht. Danach erfolgte langsames Absinken. Auf die Infektion mit einem zweiten Serotyp K 53 reagierte der Patient mit einem deutlichen Antikörperanstieg in den drei Immunglobulin-klassen. Leider lagen vier Wochen zwischen der vierten und fünften Serumprobe, so daß man über ein mögliches Maximum zwischen diesen Proben nichts aussagen kann. Auffallend, daß die Antikörper der Ig M Klasse so lang persistieren: Fast ein Jahr nach der letzten Isolierung von *K. pneumoniae* mit Serotyp K 53 war das Patientenserum immer noch positiv mit Quotienten um 4 sowohl bei K 53 als auch bei K 31.

Der Verlauf der Antikörper des Patienten 3 mit rezidivierenden Harnwegsinfekten bei Hydronephrose rechts und stummer Niere links ist in Abb. 13 (S. 132) dargestellt. Zwei Tage nach der ersten Isolierung von *K. pneumoniae*, Serotyp K 2 war der Patient bereits im Ig M positiv (Quotient 2,6). Im Ig G wurde der Patient zwei Wochen später positiv (Quotient 2,5) und im Ig A noch eine Woche später mit einem Quotienten, der dann aber bereits 4,8 betrug. Die bei einer Kontrolluntersuchung im Mai 1980 nachgewiesenen Klebsiellen und der im Vergleich zur fünften Serumprobe noch einmal deutlich angestiegene Antikörpertiter im Ig, A, Ig G und auch im Ig M ELISA machen sehr wahrscheinlich, daß der Infekt zwischen Februar und Mai 1980 im Patienten weiter bestand und das Immunsystem anhaltend stimulierte. Trotz weiterer Isolierungen von *K. pneumoniae* mit Serotyp K 2 im Juni 1980 blieben die Antikörper nahezu unverändert bis Ende Juni 1980. Ungefähr drei Wochen nach der letzten Isolierung von *K. pneumoniae*, erzielt durch eine erfolgreiche Änderung der antibiotischen

Therapie, begannen die Antikörper langsam zurückzuziehen. Acht Monate nach der letzten Isolierung war das Patientenserum allerdings immer noch positiv im Ig G (Quotient 3,1) und auch im Ig M (Quotient 2,7). Drei Monate zuvor war das Ig A mit einem Quotienten von 2,0 gerade noch positiv gewesen. Erneut fiel bei diesem Patienten die lange Persistenz von Ig M Antikörpern, wie bereits bei Patient 2 beobachtet, auf.

Abb. 14 (S. 133) zeigt den Antikörperverlauf im Serum des Patienten 4 mit Epididymitis links. Fünf Tage nach dem ersten kulturellen Nachweis von *K. pneumoniae* mit Serotyp K 28 waren Ig A, Ig G und Ig M ELISA bereits hoch positiv. Die erreichten Extinktionen im ELISA stiegen aber noch eine Woche weiter an. Während Ig G und Ig M Antikörper in der zweiten, dritten und vierten Probe nahezu unverändert waren, zeigte sich bei den Ig A Antikörpern bereits ein Absinken. In der fünften Probe rund sieben Monate nach dem letzten Nachweis von *K. pneumoniae* waren Ig A, Ig G und auch Ig M allerdings noch deutlich positiv.

Der Antikörperverlauf des Patienten 6 ist in Abb. 15 (S. 134) dargestellt. Bereits bei der ersten Serumprobe drei Tage nach dem ersten kulturellen Nachweis von *K. pneumoniae* des Serotyps K 35 fielen der Ig A und Ig G ELISA deutlich positiv aus. Im Ig G ELISA wurde selbst in der Verdünnung von $1:10^3$ noch eine Extinktion von 1,3 erreicht. Der über fast acht Monate konstante Gehalt an Ig G Antikörpern, wie er sich in der Serumverdünnung $1:10^2$ zeigt, zeigt erst bei den Serumverdünnungen $1:10^3$ und $1:10^4$ einen deutlichen Anstieg zwischen der dritten und vierten Serumprobe, der parallel zum Anstieg der Ig A Antikörper verläuft. Dieser Anstieg zwischen Januar und Juni 1980 läßt vermuten, daß der bakterielle Infekt bei der Patientin fortbestand; aus der Krankengeschichte war dazu nichts

Näheres zu erfahren. Auffallend sind, verglichen mit den hohen Ig A und Ig G Antikörpertitern, die niedrigen Ig M Antikörperspiegel. Nur der leichte Anstieg zwischen Januar und Juni 1980 im Ig M ELISA läßt das Serum gerade positiv werden mit Quotient 2,1.

Abb. 16 (S. 135) zeigt den Verlauf der Antikörper im Serum des Patienten 13 mit Pneumonie. Bei der ersten Serumprobe des Patienten, die eine Woche nach dem kulturellen Nachweis von *K. pneumoniae* des Serotyps K 16 erfolgte, war das Serum im Ig G und Ig M positiv mit Quotienten von 2,9 bzw. 2,0. Diese Antikörper blieben konstant über einen Zeitraum von nahezu vier Monaten.

Der seit dem 28.1.1980 wiederholt isolierte, nicht serotypisierbare Stamm bewirkte innerhalb von 14 Tagen einen deutlichen Anstieg spezifischer Antikörper in allen Immunglobulinklassen gegen das stammeigene präparierte Antigen. Obwohl im März und April 1980 noch dreimal dieser Stamm nachgewiesen werden konnte, blieben die Antikörper in der Probe vom 25.4.1980 nahezu unverändert gegenüber der Probe vom 11.2.1980. Überraschend der Anstieg der spezifischen Antikörper im Mai 1980 trotz fehlenden bakteriellen Nachweises.

Den Verlauf der Antikörper des Patienten 17 mit Harnwegsinfekt bei Z. n. transurethraler Resektion der Blase zeigt Abb. 17 (S. 136). Fünf Tage nach der ersten Isolierung von *K. pneumoniae* mit Serotyp K 28 war das Serum im Ig M bereits positiv. Im Ig G zeigte sich innerhalb einer Woche ein Verdoppeln der Extinktion; der Quotient stieg auf 3,3. Parallel dazu stiegen die Ig A Antikörper an, die in der zweiten Probe einen Quotienten von 3,2 zeigten.

Der weiterhin vorliegende Infekt mit *K. pneumoniae* spiegelt sich in weiterem Ansteigen der Ig G Antikörper, während Ig A und Ig M Antikörper nahezu unverän-

dert blieben. Sieben Monate nach dem letzten kulturellen Nachweis von *K. pneumoniae* aus dem Urin waren Ig A und Ig G negativ; der Ig M ELISA zeigte immer noch einen Quotienten von 2,5.

Abb. 18 (S. 137) zeigt den Antikörperverlauf des Patienten 18 mit Urosepsis verursacht durch *K. pneumoniae* bei einer neurogenen Blasenentleerungsstörung mit Hydronephrose. Neun Tage nach dem kulturellen Nachweis war das Serum im Ig A, Ig G und Ig M hochpositiv. Neun Monate später konnten immer noch Ig G Antikörper in großer Menge nachgewiesen werden, während Ig A ELISA und auch Ig M ELISA negativ ausfielen.

Abb. 19 (S. 138) veranschaulicht den Verlauf der Antikörper im Serum der Patientin 29, die nach vaginaler Hysterektomie einen Harnwegsinfekt und einen Beckenbodenabszeß entwickelte. In der ersten Serumprobe 14 Tage nach dem ersten kulturellen Nachweis von *K. pneumoniae* waren alle drei Immunglobulinklassen hochpositiv im ELISA. Die Quotienten betrugen im Ig A 9,8, im Ig G 6,4 und im Ig M 5,0. Innerhalb von sieben Wochen sanken die Antikörper deutlich ab, blieben aber immer noch positiv. Selbst fast sieben Monate nach der letzten Isolierung von *K. pneumoniae* waren Ig A und Ig M noch positiv (Quotienten 3,2 bzw. 2,5). Die Antikörper der Ig G Klasse blieben mit einem Quotienten von 2,4 gering unter dem kritischen Grenzwert von 2,5 zwischen positiven und negativen Seren.

Der Verlauf der Antikörpertiter des Patienten 36 ist in Abb. 20 (S. 139) dargestellt. Bei diesem Patienten konnte seit 1975 immer wieder aus dem Urin *K. pneumoniae* isoliert werden. Über die K-Serotypen der 1975, 1978 und 1979 isolierten Stämme ist nichts bekannt. Zwischen April und Juli 1980 konnte wiederholt der K-Serotyp K 74 nachgewiesen werden. Die Serumproben zeigten über einen Zeitraum von acht Monaten keine

Dynamik; die Quotienten blieben immer zwischen 7 und 8. Im Ig A fand sich ein leichtes Absinken der Ig A Antikörper in den ersten drei Serumproben. Vergleicht man diesen Verlauf mit den weiter oben beschriebenen, so fallen die negativen Ig M Antikörpertiter auf. Der Quotient erreichte im Ig M ELISA nie den Grenzwert 2,0.

Auch die Verläufe der Patienten 14, 33 und 41 (ohne Abb.), zeigen zuerst ein schnelles Ansteigen von Antikörpern der Immunglobulinklassen Ig M und Ig G, das erst später gefolgt wird von einem Ansteigen der Ig A Antikörper (vgl. Tab. 4-9, S. 193; Tab. 4-15, S. 199; Tab. 4-18, S. 202).

Analysiert man alle Serumproben, bei denen das genaue Datum der ersten Isolierung von *K. pneumoniae* bekannt ist, und teilt diese auf in Serumproben, die bis zu 7 Tagen bzw. 8 - 14 bzw. 15 - 28 Tage nach dem ersten bakteriologischen Nachweis von *K. pneumoniae* gesammelt wurden, so ergibt sich im ELISA folgendes Bild (vgl. Tab. 5, S. 203): Zuerst werden die Ig M Antikörper im ELISA positiv. Bereits 50 % der Serumproben sind innerhalb einer Woche im Ig M positiv. Mehr als 50 % positive Serumproben im Ig A und Ig G finden sich erst in der zweiten Woche. In der zweiten Woche nach dem ersten bakteriologischen Nachweis von *K. pneumoniae* werden im Durchschnitt die Maxima in allen drei Immunglobulinen erreicht.

Eine lange Persistenz der spezifischen Antikörper wie von HEIDELBERGER [64] bei Pneumokokkeninfektionen, KALDOR et al. [87] bei *Campylobacter* Enteritiden, von EKWALL et al. [39] bei *Shigella sonnei* Infektionen, von EDEBO et al. [35] bei *Salmonella* Enteritiden und von GRANFORS et al. [54] bei *Yersinia* Arthritiden beschrieben, zeigte sich auch bei Infektionen mit *K. pneumoniae*.

Wir konnten nicht bestätigen, daß die Ig M Antikörper wegen ihrer kürzeren Halbwertszeit von 5 - 6 Tagen, verglichen mit 20 Tagen bei Ig G Antikörpern [59,92], schneller im ELISA negativ werden als die Ig G Antikörper.

3.4. Spezifität des indirekten ELISA

3.4.1. Nachweis von Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene von Klebsiella pneumoniae im ELISA

Aus Kapselquellungsreaktionen, Gegenstromimmunelektrophorese und passiver Hämagglutination sind zahlreiche Kreuzreaktionen innerhalb der 72 K-Antigene von *K. pneumoniae* bekannt [19, 36, 42, 44, 71, 72 - 75, 113, 117, 119].

Zum Nachweis möglicher Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene im ELISA wurden einige hochtitrige Patientenserum gegen das homologe Antigen und gegen die heterologen Bestandteile des K-Mischantigens (K 2, K 3, K 7, K 13, K 28, K 55, K 74) getestet.

Abb. 21 (S. 140) zeigt die Kreuzreaktionen vom Serum des Patienten 3 in der Verdünnung $1:10^2$ (homologer Stamm: Str. 255 (K 2)). Dazu wurden die Extinktionen nach ihrer Höhe zusammengestellt und dem entsprechenden K-Antigen zugeordnet. Unter den heterologen Antigenen fielen K 28 und K 13 auf mit einer höheren Extinktion im Ig G verglichen mit den anderen heterologen K-Antigenen. Aber nur bei K 28 war sowohl im Ig A als auch im Ig M eine höhere Extinktion als bei den anderen heterologen Antigenen zu beobachten.

Um zu prüfen, ob es sich bei der Reaktion des Patientenserums 3 mit dem heterologen K-Antigen K 28 wirklich um eine strukturbedingte Kreuzreaktion zwischen den beiden Antigenen K 2 und K 28 handelt, wurde ein Verlauf der heterologen und homologen Antikörper im ELISA bestimmt. Als Serumproben wählten wir die erste, sechste und zwölfte Serumprobe des Patienten. Das Ergebnis zeigt Abb. 22 (S. 141).

Der heterologe Antikörpertiterverlauf zeigt im Ig G und auch im Ig M einen Anstieg der Extinktion bei der sechsten Probe und ein Absinken bei der zwölften Blutprobe. Dieses Bild macht strukturbedingte Kreuzreaktionen zwischen dem K 28 Antigen und dem K 2 Antiserum (Serum des Patienten 3) recht wahrscheinlich.

Abb. 23 (S. 142) zeigt die Reaktionen des Serums des Patienten 4 (homologer Stamm: Str. 215 (K 28)) in der Verdünnung $1:10^2$ mit den heterologen Antigenen des Mischantigens. Faßt man das Bild von Ig A, Ig G und Ig M zusammen, so fällt keines der getesteten heterologen Antigene aus dem Rahmen. Im Ig M und Ig A ELISA werden nur ungefähr ein Drittel der Extinktion, die homolog erreicht wurde, bei den heterologen Antigenen erzielt. Im Ig G ELISA zeigte sich eine größere Streuung. Mit K 7 wurde eine Extinktion von 1,0, mit K 13 nur eine um 0,5 erreicht. Die bei Patienten 3 in Abb. 21 und Abb. 22 angedeutete Kreuzreaktion zwischen K 2 und K 28 zeigt sich bei Patient 4 nicht. Es scheint also das K 28 Antigen zwar mit dem K 2 Antiserum zu reagieren, aber nicht das K 2 Antigen mit dem K 28 Antiserum, obwohl im Ig G ELISA bei K 2 noch die zweitgrößte Extinktion nach K 7 erreicht wurde.

Abb. 24 (S. 143) zeigt das Ergebnis bei Patient 36 (homologer Stamm: Str. 452 (K 74)). Die Extinktionen heterolog betrugen im Ig G ELISA nur zwischen einem Drittel und der Hälfte der homolog erreichten. Im Ig A ELISA betrugen die heterologen Reaktionen nur ein Viertel. Der bei diesem Patienten negative Ig M Test homolog zeigt auch heterolog negative Reaktionen mit Extinktionen zwischen 0,1 und 0,2.

3.4.2. Kreuzreaktionen zwischen K-Antigenen von Klebsiella pneumoniae und O-Antigenen von Escherichia coli im ELISA

Kreuzreaktionen zwischen K-Antigenen von *K. pneumoniae* und Pneumokokkenpolysaccharid sind vielfach beschrieben worden [3, 63, 65, 68, 69, 71]. Ebenfalls sind Kreuzreaktionen zwischen O-Antigenen von *K. pneumoniae* und *E. coli* bekannt [90, 118]. KAUFFMANN [90] fand 1949 antigene Verwandtschaft zwischen den K-Antigenen von *K. pneumoniae* und *E. coli*. Während *Klebsiella* K 10 fast identisch mit *Escherichia coli* K 39 ist, sind *Klebsiella* K 7 und *Escherichia coli* K 55, *Klebsiella* K 8 und *Escherichia* K 34, und *Klebsiella* K 11 und *Escherichia coli* K 37 nah miteinander verwandt.

Wir wollten untersuchen, ob zwischen K-Antigenen von *K. pneumoniae* und Lipopolysacchariden von *E. coli* Kreuzreaktionen bestehen, die die Interpretation nachgewiesener Antikörper gegen K-Antigen erschweren würden. Dazu wurden sieben Patientenserum auf ihren Antikörpergehalt gegen die häufig aus Urin bzw. aus Stuhl zu isolierenden *E. coli* O-Serotypen O 2, O 4, O 6, O 7, O 75 getestet, wobei als Kontrolle ein seltener Serotyp O 55 mitgeführt wurde.

Die nächsten Abbildungen sind wie die unter 3.4.1. dargestellten aufgebaut. Es wurde versucht, eine Reihe abnehmender Extinktionen über die verschiedenen O-Antigene darzustellen und dem dazugehörigen O-Antigen zuzuordnen.

Abb. 25 (S. 144) zeigt das Ergebnis vom Serum des Patienten 2. In dieser Abbildung wurden auch die mit dem negativen Kinderserum erreichten Extinktionen dargestellt. Während im Ig G das Patientenserum nur bei *E. coli* O 55 eine positive Reaktion (Quotient größer

2,5) zeigte, waren im Ig M auch die anderen getesteten O-Antigene mit Quotienten zwischen 4 und 5 deutlich positiv. Auffallend die über alle O-Antigene gleichmäßig verteilte niedrige Extinktion im Ig A ELISA zwischen 0,2 und 0,3. Um zu sehen, ob es sich bei den im Ig M deutlichen Reaktionen des Serums mit E. coli O 4, O 6 und O 55 um strukturbedingte Kreuzreaktionen handelt, wurde ein heterologer Verlauf im ELISA bestimmt.

Abb. 26 (S. 145) zeigt das Ergebnis. Bei keinem der O-Antigene konnte ein Abfallen der Extinktion zwischen den zwei Serumproben vom 28.12.1979 und der vom 1.9.1980 in dem Maße beobachtet werden, wie beim homologen Antigen K 31. Bei E. coli O 4 stiegen die Antikörper sogar in allen drei Immunglobulinklassen deutlich an, bei E. coli O 6 nur leicht, während bei E. coli O 55 bis auf die Ig A Antikörper ein leichtes Absinken der Extinktion zu beobachten war. Strukturbedingte Kreuzreaktionen zwischen K 31 und E. coli O 4, O 6 und O 55 sind daher unwahrscheinlich. Die beobachteten Verläufe sind eher Folgen rezidivierender Harnwegsinfektionen mit E. coli, wie sie in der Krankenakte des urologischen Patienten berichtet wurden.

Abb. 27 (S. 146) zeigt das Ergebnis, das wir mit Serum des Patienten 3 bekamen. Bis auf E. coli O 2 im Ig G und Ig M und E. coli O 4 im Ig M, lagen die beobachteten Extinktionen bei den E. coli Lipopolysacchariden wesentlich niedriger als die homologe Reaktion mit K 2 und waren gleichmäßig verteilt.

Bei Patient 10 (Abb. 28, S. 147) mit niedrigeren homologen Titern als Patient 3 (Ig G negativ, Ig A und Ig M Quotienten um 2,6) waren die Extinktionen in allen Immunglobulinfraktionen und bei allen Antigenen größer als die homologe Reaktion mit K 2. E. coli O 2, O 4 und O 7 lieferten die höchsten Titer. Kreuzreaktionen sind

dafür nicht verantwortlich zu machen, eher eine Immunantwort auf die Mischinfektion im Urogenitalbereich Januar 1980, bei der neben *Pseudomonas aeruginosa* und *Proteus mirabilis* auch *E. coli* isoliert werden konnte. Patient 26 (Abb. 29, S. 148) mit negativen homologen Ig G Antikörpern, aber positiv im Ig A ELISA (Quotient 4,1) und Ig M ELISA (Quotient 2,9), zeigte im Vergleich zu den oben gezeigten Patienten die höchsten Extinktionen im Ig A ELISA. *E. coli* O 2 zeigte auch hier die größten Extinktionen im Ig G und Ig M; nur im Ig A war mit *E. coli* O 7 eine gering höhere Extinktion zu erreichen.

Patient 30 (Abb. 30, S. 149), der in allen drei Immunglobulinklassen homolog positiv war, zeigte auch bei *E. coli* O 2 die höchsten Extinktionen. Wie bei Patient 10 waren die mit den *E. coli* Lipopolysacchariden erreichten Extinktionen höher als die homologe Reaktion mit Ausnahme von *E. coli* O 55, das im Ig A und Ig M eine etwas geringere Extinktion als homolog zeigte.

Bei Patient 36 (Abb. 31, S. 150) waren die geringsten Reaktionen mit den *E. coli* Lipopolysacchariden zu beobachten. Bis auf die niedrigere Extinktion mit *E. coli* O 2 im Ig G ähnelt dieses Bild am ehesten dem des Patienten 3 (Abb. 27, S. 146), bei dem in der Krankengeschichte keinerlei Infektionen mit *E. coli* zu finden waren. Bei Patient 36 lag der letzte Nachweis von *E. coli* bereits 17 Monate zurück.

Patient 41 (Abb. 32, S. 151) mit Bronchopneumonie und Pyelonephritis zeigte bei *E. coli* O 2, O 4 und O 7 im Ig M deutlich höhere Reaktionen als homolog. *E. coli* O 2 zeigte auch bei diesem Patienten von den *E. coli* Lipopolysacchariden im Ig A, Ig G und auch im Ig M die höchsten Extinktionen.

Im Verlauf homologer und heterologer Antikörpertiter bei Patient 41 (Abb. 33, S. 152) konnte eine Kreuzreaktion zwischen K 45 und E. coli O 2 ausgeschlossen werden.

Bei E. coli O 2 zeigte sich erst ein deutlicher Anstieg der Extinktion zwischen der zweiten und dritten Serumprobe, im Gegensatz zum homologen K-Antigen, bei dem der stärkere Anstieg zwischen der ersten und zweiten Serumprobe erfolgte. Dieses Bild spricht eher für eine frische Infektion mit E. coli O 2.

Es wurde im E. coli LPS-ELISA ein buntes Bild gefunden: Seren mit deutlich höheren Antikörpern heterolog als homolog, ungefähr gleichen heterolog und homolog und Seren, deren Antikörper gegen E. coli Lipopolysaccharid wesentlich niedriger waren als die gegen das homologe Antigen gerichteten. E. coli O 2 war das O-Antigen von E. coli, bei dem die höchsten Antikörpertiter nachzuweisen waren. Nach SIETZEN [143], MÖSSNER et al. [108], BUDDE et al. [13] ist E. coli O 2 der am häufigsten aus Stuhlproben und Urin bei Vorliegen eines Harnwegsinfektes isolierte O-Serotyp von E. coli.

3.5. Absorptionsversuche

3.5.1. Einfluß der Absorption eines Patientenserums an intakte Bakterien eines heterologen K-Serotyps auf Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene im ELISA

0,2 ml des Serums des Patienten 18 wurden mit 1,8 ml einer Flüssigkultur des Referenzstammes K 3 (10^9 KB/ml) über Nacht inkubiert, am nächsten Tag zentrifugiert. Der Überstand wurde im ELISA auf verbliebene Antikörper gegen die Bestandteile des K-Mischantigens getestet.

Abb. 34 (S. 153) zeigt die Ergebnisse im Ig G ELISA des Serums vor und nach der Absorption. Die Reaktion homolog gegenüber K 13 blieb in der Serumverdünnung $1:10^2$ unverändert, wenn auch in der Verdünnung $1:10^3$ und $1:10^4$ ein leichter Rückgang der Extinktion zu beobachten war. Nach der Absorption konnte nur ein leichtes Absinken der Extinktion bei K 28, K 55 und K 2 erreicht werden. K 3 zeigte einen etwas stärkeren Rückgang der Extinktion. Das stärkste Absinken um 50 % wurde jedoch bei K 7 gesehen. Bei K 74 blieb die Reaktion im wesentlichen unverändert. Die Reaktion des K 13 Antiserums (Patientenserum 18) mit dem K-Antigen K 74 könnte durch strukturbedingte Kreuzreaktion zu erklären sein.

Abb. 35 (S. 154) zeigt die Ergebnisse im Ig M ELISA. Nach der Absorption an K 3 lagen alle Extinktionen, auch die gegenüber dem homologen Antigen K 13, um ungefähr die Hälfte niedriger.

Wesentlich erscheint, daß im Ig M ELISA nach Absorption des Patientenserums an intakte Bakterien des Klebsiella Referenzstammes K 3 die homologe Reaktion mit K 13 genauso abfiel wie die Reaktion mit den heterologen Antigenen - ein Beweis für die höhere Unspezifität, für

das Auftreten häufigerer Kreuzreaktionen der Ig M Antikörper [76].

Vergleicht man die Resultate im Ig M und Ig G ELISA vor und nach Absorption, so scheint die Spezifität der Ig G Antikörper größer zu sein.

3.5.2. Einfluß wiederholter Absorption eines Patientenserums an mit K-Mischantigenen gecoatete Mikrotiterplatten auf die homologen und heterologen Reaktionen im ELISA

Abb. 36 (S. 155) zeigt den Einfluß fünfmaliger Absorption des Serums des Patienten 18 an mit K-Mischantigen (enthielt nicht das homologe Antigen K 13) gecoatete Mikrotiterplatten auf die homologe Reaktion im ELISA. Erst nach der fünften Absorption wurde im Ig G ELISA ein leichter Rückgang der Extinktionen in den Serumverdünnungen $1:10^3$ und $1:10^4$ beobachtet. Im Ig M ELISA dagegen war ein deutlicher Rückgang nach der fünften Absorption in allen Serumverdünnungen zu sehen.

In Abb. 37 (S. 156) ist der Einfluß wiederholter Absorption an K-Mischantigen auf die heterologe Reaktion mit dem K-Mischantigen (ohne K 13) im ELISA dargestellt. Die unspezifischen Antikörper konnten erfolgreich absorbiert werden. Im Ig G ELISA wurden die unspezifischen Reaktionen mit jedem Absorptionsschritt weniger. Nach der fünften Absorption waren die Extinktionen ungefähr auf die Hälfte in allen drei Serumverdünnungen zurückgegangen, während die homologe Reaktion nur in der Serumverdünnung $1:10^3$ und $1:10^4$ leicht reduziert war. Im Ig M ELISA zeigte das absorbierte Serum nach der ersten und dritten Absorption vergleichbare Reaktionen mit einem Rückgang der Extinktion um nur 0,2 Extinktionseinheiten. Nach dem fünften Absorptionsschritt

jedoch konnte ein weiteres Absinken der heterologen Reaktion um die Hälfte beobachtet werden, die aber auch von einem Rückgang der spezifischen Reaktion mit dem homologen Antigen K 13 begleitet war.

Vergleicht man beide Absorptionsversuche, so ist die Methode mit der wiederholten Absorption an mit Mischantigen gecoatete Mikrotiterplatten besser geeignet, die unspezifischen Reaktionen zu vermindern.

3.6. Antikörpertiter gegen homologes K-Antigen in der Gegenstromimmunelektrophorese (Counter-Current Immunoelectrophoresis, CIE)

Um eine vergleichende Aussage über die Sensitivität des ELISA machen zu können, wurden die Titer der Patientenserumproben auch in der Gegenstromimmunelektrophorese bestimmt. Dazu dienten als Antigene Bakteriensuspensionen des betreffenden Stammes mit optischer Dichte 0,200 und 0,100 und gereinigtes K-Antigen in Konzentration von 100 µg/ml und 10 µg/ml. Bei 10 µg/ml wurden die besten Präzipitate beobachtet; deshalb wählten wir die bei dieser Konzentration bestimmten Antikörpertiter für die Darstellung der Ergebnisse in Tab. 6 (S. 204 - 207).

Die Gegenstromimmunelektrophorese erwies sich als wesentlich weniger sensitiv als der ELISA. Von den 114 getesteten Serumproben (von 8 Proben war nicht mehr genug Serum vorhanden) waren 45 Serumproben positiv, das entspricht einem Prozentsatz von 40 %. Von 42 Patienten waren 14 (33 %) in der Gegenstromimmunelektrophorese positiv, d. h. ihre Serumproben wiesen mindestens im konzentrierten Serum ein Präzipitat auf. Im Gegensatz waren dazu im ELISA 34 der 42 Patienten (81 %) wenigstens in einer Immunglobulinklasse positiv. 16 von 42 (38 %) waren in allen drei Immunglobulinklassen positiv. Aber nur acht von den 16 im ELISA in allen drei Immunglobulinklassen positiven Patienten zeigten auch in der Gegenstromimmunelektrophorese positive Titer. Die im ELISA in allen drei Immunglobulinklassen negativen Serumproben waren auch alle in CIE negativ. Der höchste Titer in der Gegenstromimmunelektrophorese war 1:32 bei der ersten Serumprobe des Patienten 18. Von den 45 in der Gegenstromimmunelektrophorese positiven Serumproben waren 28 (62 %) im ELISA in allen drei

Immunglobulinklassen positiv. Acht Serumproben (18 %) waren nur im Ig G und Ig A positiv; vier Serumproben (9 %) nur im Ig A und Ig M. Eine Serumprobe (2 %) reagierte nur im Ig G und Ig M ELISA positiv. Je zwei Serumproben waren entweder im ELISA nur im Ig M oder im Ig G positiv gewesen. Zwischen der Extinktion im Ig G ELISA in der Serumverdünnung $1:10^2$ und $2\log\frac{1}{\text{Titer}}$ in der Gegenstromimmunelektrophorese bestand kein statistisch auffälliger Zusammenhang ($r = 0,275$, $p < 0,1$), jedoch in der Serumverdünnung $1:10^3$ ($r = 0,390$, $p < 0,01$). Im Ig M ELISA ergab sich bei der Serumverdünnung $1:10^2$ ein auf dem 1 % Niveau signifikanter Zusammenhang ($r = 0,405$, $p < 0,01$), ebenso im Ig A ELISA ($r = 0,441$, $p < 0,01$).

3.7. Antikörpertiter in der passiven Hämagglutination

Die Ergebnisse der Antikörperbestimmungen in der passiven Hämagglutination mit dem gereinigten K-Antigen nach ERIKSEN und der autoklavierten und dann zentrifugierten Bakteriensuspension (NETER Antigen) zeigt Tab. 7 (S. 208 - 211).

3.7.1. Antikörpertiter mit den gereinigten K-Antigenen und CrCl₃ in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN

3.7.1.1. Homologe Antikörpertiter

Bei neun Patienten wurden homologe Antikörpertiter in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN [43] bestimmt. Unter den getesteten Proben waren sechs im ELISA hochtitrig, zwei nur im Ig A ELISA positiv und eine in allen drei Immunglobulinklassen negativ.

Die Serumproben von sieben Patienten waren positiv, darunter die sechs im ELISA hochtitrigen Proben und ein nur im Ig A ELISA positives Serum. Zwei Proben waren negativ, d. h. sie zeigten selbst bei der niedrigsten Serumverdünnung von 1:40 keine Agglutination.

Die erreichten Titer lagen zwischen 1:160 und 1:5120. Den niedrigsten Titer zeigte das nur im Ig A ELISA positive Serum des Patienten 27. Den höchsten Titer fanden wir bei der ersten Serumprobe des Patienten 18, die auch in der Gegenstromelektrophorese den höchsten Titer mit 1:32 gezeigt hatte. Demnach zeigt sich die passive Hämagglutination nach ERIKSEN empfindlicher als CIE.

3.7.1.2. Heterologe Antikörpertiter

Bei fünf der in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN positiven Seren wurden die Serumproben auch gegen die Bestandteile des Mischantigens aus sieben K-Serotypen getestet. Die Serumprobe vom 14.5.1980 des Patienten 3, die beim homologen Antigen Str. 255 (K 2) einen Titer von 1:640 zeigte, ergab einen Titer von 1:640 bei Str. 215 (K 28), 1:80 bei Nr. 4153 (K 13) und 1:40 bei V.2276 (K 3). Bei V.1879 (K 7), V.485 (K 55) und V.2914 (K 74) war die Serumprobe negativ.

Die Serumprobe vom 14.5.1980 des Patienten 3 war auch im ELISA auf die Kreuzreaktionen innerhalb der K-Antigene getestet worden (vgl. Abb. 21, S. 140, und 22, S. 141). Dabei wurde eine Kreuzreaktion zu K 28 für wahrscheinlich gehalten. Ordnete man die Extinktionen, die bei den heterologen Antigenen erreicht wurden, der Größe nach, so kam an erster Stelle K 28, dann K 13 und K 3. K 74, K 55 und K 7 zeigten auch im ELISA die niedrigsten Extinktionen.

Die Serumprobe vom 3.1.1980 des Patienten 4, bei der beim homologen Antigen Str. 215 (K 28) ein Titer von 1:1280 gefunden wurde, war nur noch positiv mit einem Titer von 1:80 bei Nr.4153 (K 13). Das heterologe Antigen K 13 hatte jedoch im ELISA (vgl. Abb. 23, S. 142) die niedrigsten Reaktionen gezeigt. Die anderen heterologen K-Antigene waren in ihrer Reaktion mit dem Patientenserum im ELISA jedoch auch deutlich schwächer als das homologe Antigen K 28.

Bei der Serumprobe vom 18.2.1980 des Patienten 18, die homolog einen Titer von 1:5120 aufwies, zeigten sich bei V.2276 (K 3) und Str. 215 (K 28) vergleichbare Reaktionen mit einem Titer von 1:2560, bei V.2914 (K 74) ein Titer von 1:640. K 2, K 7 und K 55 waren negativ. Im Ig G ELISA (vgl. Abb. 34, S. 153) wiesen K 74 und

K 7 die höchsten Extinktionen auf; im Ig M ELISA (vgl. Abb. 35, S. 154) waren keine deutlichen Unterschiede zwischen den heterologen K-Antigenen nachzuweisen.

Patient 29, der mit Serumprobe vom 21.3.1980 beim homologen Stamm V.6034 (K 2) einen Titer von 1:320 aufwies, zeigte bei V.2276 (K 3) und Str. 215 (K 28) einen höheren Titer mit 1:640, bei Nr. 4153 (K 13) einen Titer von 1:320 und bei V.485 (K 55) und V.2914 (K 74) einen Titer von 1:160. Vergleicht man diese Ergebnisse mit denen des Patienten 3, dessen homologer Stamm ebenfalls den Serotyp K 2 besaß, dann sieht man, daß dort in der passiven Hämagglutination auch K 28, K 13 und K 3 an der Spitze der heterologen Antigene stehen; vielleicht ein Hinweis auch auf Kreuzreaktionen zwischen dem Antiserum K 2 und Antigen K 13, wie bereits früher in Kapselquellungsreaktionen beobachtet [36, 72], und zwischen dem Antiserum K 2 und dem Antigen K 3.

Bei Patient 36 konnten nur beim homologen Stamm Str. 452 (K 74) ein Titer von 1:320 und bei dem heterologen Antigen von V.2276 (K 3) ein Titer von 1:40 nachgewiesen werden. Im ELISA (vgl. Abb. 24, S. 143) hatte sich kein Unterschied zwischen den heterologen Antigenen des K-Mischantigens gefunden.

Berechnet man die Korrelationen zwischen $10 \log \frac{1}{\text{Titer}}$ in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN und den Extinktionen in der $1:10^2$ Serumverdünnung im ELISA, so ergibt sich für den Ig M ELISA ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,715$ ($p < 0,001$), für den Ig A ELISA $r = 0,803$ ($p < 0,001$) und für den Ig G ELISA $r = 0,852$ ($p < 0,001$).

3.7.2. Antikörpertiter in der passiven Hämagglutination mit dem NETER-Antigen

3.7.2.1. Homologe Antikörpertiter

Fünf von sechs getesteten Patienten waren positiv. Das im Ig A und Ig G-ELISA hochtitrige Serum des Patienten 6, das aber im Ig M ELISA mit einem Quotienten von 2,1 nur gerade noch als positiv zu betrachten ist, reagierte in der Hämagglutination mit dem NETER-Antigen negativ. Es zeigte bereits bei der niedrigsten Serumverdünnung von 1:40 keine Agglutination.

Die erreichten Titer lagen zwischen 1:160 und 1:40960. Die Methode mit dem NETER-Antigen scheint daher sensibler als die Methode nach ERIKSEN zu sein.

Der Patient 18 zeigte in der passiven Hämagglutination mit NETER-Antigen eine dem ELISA (vgl. Abb. 18, S. 137) vergleichbare Dynamik. In der ersten Serumprobe wurde ein Titer von 1:40960 gefunden, in einer Probe fünf Monate später noch ein Titer von 1:5120 und nochmals vier Monate später immerhin noch ein Titer von 1:2560.

3.7.2.2. Heterologe Antikörpertiter mit Klebsiellen

Die fünf in der passiven Hämagglutination mit dem NETER-Antigen positiven Seren wurden auf Kreuzreaktionen innerhalb der Klebsiellen getestet.

Das Serum des Patienten 3 mit homologem Titer von 1:640 bei K. pneumoniae Str. 255 (K 2), zeigte bei Nr. 4153 (K 13) den höchsten Titer mit 1:1280, bei V.485 (K 55) Titer von 1:640 und bei V.2276 (K 3), Str. 240 (K 28) und V.2914 (K 74) jeweils einen Titer von 1:320.

Patient 4 mit homologem Titer von 1:320 bei K. pneumoniae Str. 240 (K 28) zeigte bei V.2276 (K 3) und Nr. 4153 (K 13) einen Titer von 1:1280. Bei V.485 (K 55)

und V.2914 (K 74) fanden wir einen Titer von 1:640. Die Untersuchungen auf Antikörper gegen V.6034 (K 2) und V.1879 (K 7) fielen negativ aus.

Patient 18, der mit einem Titer von 1:40960 den höchsten Antikörpertiter in der passiven Hämagglutination mit dem NETER-Antigen gezeigt hatte, zeigte bei V.2276 (K 3), Str. 215 (K 28), V.485 (K 28) und V.2914 (K 74) jeweils einen Titer von 1:20480. Nur gegen V.6034 (K 2) und gegen V.1879 (K 7) konnten keine Antikörper nachgewiesen werden.

Patient 29 mit homologem Titer von 1:1280 bei K. pneumoniae V.6034 (K 2) wies bei V.2276 (K 3) und V. 485 (K 55) jeweils einen Titer von 1:5120 auf. Bei Nr. 4153 (K 13), Str. 240 (K 28) und V.2914 (K 74) fanden wir jeweils einen Antikörpertiter von 1:2560. Nur gegen V.1879 (K 7) waren keine Antikörpertiter nachzuweisen. Auch bei Patient 3 mit dem gleichen homologen Antigen K 2 waren Antikörper gegen K 3, K 13, K 28, K 55 und K 74 nachzuweisen.

Patient 36 mit homologem Titer von 1:160 zeigte bei V.2276 (K 3), Nr. 4153 (K 13) und V. 485 (K 55) jeweils einen Titer von 1:320. Bei Str. 240 (K 28) war ein Titer von 1:80 nachzuweisen, während gegen V.6034 (K 2) und V.1879 (K 7) keine Antikörper gefunden wurden. In der CrCl_3 Methode mit gereinigten K-Antigenen anstelle nur autoklavierter und dann zentrifugierter Bakterien-suspensionen (NETER-Antigen) waren nur Antikörper gegen K 3 nachzuweisen.

Berechnet man die Korrelation zwischen den Titern in der passiven Hämagglutination mit der CrCl_3 Methode und dem NETER-Antigen, so ergab sich nur ein statistisch auffälliger Zusammenhang mit $r = 0,545$ ($p < 0,05$).

Berechnet man den Korrelationskoeffizienten zwischen der passiven Hämagglutination mit dem NETER-Antigen und

den Extinktionen im ELISA bei der Serumverdünnung 1:10², so ergeben sich keinerlei signifikante Zusammenhänge. So finden sich für den Ig A ELISA und die passive Hämagglutination $r = 0,327$ ($p < 0,1$) und für den Ig M ELISA $r = 0,363$ ($p < 0,1$). Zwischen den Extinktionen im Ig G ELISA und den Titern in der passiven Hämagglutination nach NETER ergibt sich mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,433 ($p < 0,05$) ein statistisch auffälliger Zusammenhang.

Vergleicht man die heterologen Reaktionen innerhalb der K-Antigene von *K. pneumoniae* bei den dafür verwendeten Methoden ELISA, passive Hämagglutination nach NETER und ERIKSEN, so ist zusammenfassend festzustellen:

Im ELISA beobachtete Kreuzreaktionen spiegeln sich auch in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN wider. Bei Verwendung der nur autoklavierten und dann abzentrifugierten Bakteriensuspensionen nach NETER treten Kreuzreaktionen wesentlich stärker hervor, so daß oft zwischen heterologen und homologen Reaktionen nicht mehr sicher zu unterscheiden ist.

3.7.2.3. Heterologe Antikörpertiter mit *Escherichia coli*

Für die Antikörperbestimmung gegen *E. coli* in der passiven Hämagglutination wählten wir zusätzlich *E. coli* O 14 als Indikator für Antikörper gegen das "enterobacterial common antigen" [94, 95, 96, 105, 112] zu den *E. coli* O Serotypen O 1, O 2, O 4, O 6, O 7, O 55 und O 75. Fünf Patienten wurden auf ihre Antikörper gegen *E. coli* mit der passiven Hämagglutination getestet. Die gefundenen Titer lagen zwischen 1:160 und 1:81920. In jedem Serum konnten Antikörper gegen jeden *E. coli* Stamm nachgewiesen werden. Die Seren der

Patienten 4 und 36 wiesen die niedrigsten Titer auf mit Werten zwischen 1:160 und 1:2560. Der höchste Titer konnte in der ersten Serumprobe des Patienten 18 bei E. coli 0 1 nachgewiesen werden, mit 1:81920; diese Antikörper zeigten auch ein deutliches Absinken in der zweiten und dritten Serumprobe.

Patient 3, der im ELISA (vgl. Abb. 27, S. 146) gegen die E. coli Lipopolysaccharide eine hohe Extinktion bei E. coli 0 2 zeigte, wies in der passiven Hämagglutination nur einen Titer von 1:640 gegen diesen Stamm auf. Der höchste Titer bei E. coli 0 4 in der passiven Hämagglutination mit 1:5120 war im ELISA höchstens durch eine relativ hohe Extinktion im Ig G und Ig M zu sehen.

Patient 36, der im ELISA (vgl. Abb. 31, S. 150) gegen alle getesteten E. coli Lipopolysaccharide ein relativ einheitliches Bild zeigte, zeigte dies auch in der passiven Hämagglutination. Die erreichten Titer lagen zwischen 1:160 und 1:640.

Berechnet man die Korrelation zwischen $10 \log \frac{1}{\text{Titer}}$ der passiven Hämagglutination nach NETER und den Extinktionen in der Serumverdünnung $1:10^2$ im E. coli LPS ELISA, so findet sich für den Ig A ELISA nur ein statistisch auffälliger Zusammenhang mit dem Korrelationskoeffizienten $r = 0,578$ ($p < 0,05$). Der Zusammenhang zwischen dem Ig M bzw. Ig G ELISA und den Titern in der passiven Hämagglutination war dagegen auf dem 1 % bzw. 0,1 % Niveau signifikant mit einem Korrelationskoeffizienten für den Ig M ELISA von $r = 0,653$ ($p < 0,01$) und für den Ig G ELISA von $r = 0,774$ ($p < 0,001$).

3.8. Rheumafaktorbestimmung in den Patientenseren und Rheumafaktorabsorption

Mit dem Latex RF Reagenz (Behring Institut, Marburg) wurden jeweils die ersten Serumproben der Patienten auf das Vorhandensein des Rheumafaktors hin untersucht. Fünf der 42 Patienten (12 %) waren im Latextest positiv, d. h. sie zeigten mindestens bei der Serumverdünnung 1:20 eine positive Agglutinationsreaktion. Von diesen Patienten wurden die weiteren Serumproben ebenfalls auf Rheumafaktor getestet und austitriert. Die gefundenen Titer lagen zwischen 1:60 und 1:120. Bei keinem der positiven Patienten war eine rheumatische Anamnese zu erfahren. Das Alter der Patienten mit positiv ausfallendem Latextest lag zwischen 58 und 77 Jahren. Es ist bekannt, daß mit zunehmendem Alter der Patienten unspezifische Erhöhungen häufiger werden (nach HARTMANN [61] 28 % im Latextest positiv bei über Sechzigjährigen). Um den Störfaktor Rheumafaktor im ELISA zu eliminieren, wurden 20 µl des konzentrierten Serums mit 780 µl verdünntem Latex RF-Reagenz über Nacht bei Zimmertemperatur inkubiert. Bei allen Proben war am nächsten Tag im Überstand kein Rheumafaktor mehr nachzuweisen. Am folgenden Tag wurde im gleichen Ansatz die Reaktion mit dem homologen Antigen im Ig A, Ig G und Ig M ELISA vor und nach Absorption getestet. Die Ergebnisse sind in Tab. 8 - 12 dargestellt.

Bei Patient 1 (Tab. 8, S. 212 - 215) waren im Ig A ELISA nach Absorption des Rheumafaktors die erreichten Extinktionen um durchschnittlich 26 % niedriger, die Serumproben blieben aber alle positiv. Im Ig G ELISA fand sich keine wesentliche Änderung. Im Ig M ELISA gingen die Extinktionen um durchschnittlich 19 %, der mittlere Quotient von 3,3 auf 2,6 zurück.

Bei Patient 4 (Tab. 9, S. 216 - 218) gingen die Extinktionen im absorbierten Serum um durchschnittlich 14 % zurück. Der Ig G ELISA blieb wie bei Patient 1 unverändert. Im Ig M ELISA fielen die Extinktionen nur um durchschnittlich 6 %, der mittlere Quotient von 5,6 ging auf 5,2 zurück.

Bei Patient 19 (Tab. 10, S. 219) ging der mittlere Quotient im Ig M ELISA von 3,7 auf 2,8 zurück. Im Ig A und Ig G ELISA waren die Veränderungen unwesentlich.

Bei Patient 33 (Tab. 11, S. 220) waren der Ig A und Ig G ELISA vor und nach Absorption unverändert. Im Ig M ELISA war jedoch ein deutlicher Rückgang der Extinktion um 43 % zu beobachten, so daß die beiden Serumproben im Ig M Test nach Absorption negativ waren.

Bei Patient 38 (Tab. 12, S. 221) waren die Werte vor und nach erfolgter Absorption des Rheumafaktors etwa gleich hoch. Der negative Ig M ELISA blieb negativ.

Von den fünf Rheumafaktor positiven Patienten wurde nur ein Patient durch Rheumafaktorabsorption an Latexpartikel im Ig M ELISA negativ. Die theoretisch zu erwartenden höheren Werte im Ig G konnten nicht gefunden werden.

3.9. Immunglobulinkonzentrationen der Patientenserum

Mit Hilfe der radialen Immundiffusion (Tri-Partigen, Behring Institut, Marburg) wurden die Serumkonzentrationen an Ig A, Ig G und Ig M in jeweils der ersten Serumprobe der 42 Patienten bestimmt.

Die Ergebnisse in Internationalen Einheiten sind in Tab. 13 (S. 222 - 223) dargestellt.

Der bei dem Patienten 14 gefundene Wert von 1470 IU Ig A/ml wurde mehrfach kontrolliert. In einer freundlicherweise vom Institut für Klinische Chemie in Großhadern durchgeführten Immunelektrophorese konnte eine monoklonale Ig A Gammopathie vom Kappa Typ nicht ausgeschlossen werden.

4. Diskussion

4.1. Kritische Grenzwerte im ELISA

Voraussetzung für die Möglichkeit, zwischen Patienten mit Kolonisation oder Infektion mit *K. pneumoniae* differenzieren zu können, war ein möglichst spezifisches und sensitives Verfahren zur Antikörperbestimmung. Wir entschieden uns daher für den ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay), wobei von jedem Patientenstamm das K-Antigen präpariert wurde, und verglichen den ELISA mit der passiven Hämagglutination und der Gegenstromimmunelektrophorese (CIE = Counter-Current Immuno-electrophoresis).

Verfahren zur Präparation von K-Antigenen von *K. pneumoniae* sind von RISSING [128] und NIMMICH [114] beschrieben worden. Nachdem wir anfänglich nach beiden Verfahren präpariert hatten, bei den K-Antigenen nach NIMMICH aber einen geringeren Nukleinsäure- und Proteinanteil fanden, entschlossen wir uns im weiteren für die K-Antigen-Präparation nach NIMMICH.

Bevor die verschiedenen Methoden zur Antikörperbestimmung nach ihrer Empfindlichkeit verglichen werden, sollen einige Bemerkungen über die kritischen Grenzwerte im Ig A, Ig M und Ig G ELISA zwischen positiven und negativen Seren gemacht werden.

Die Höhe eines "Titers" im ELISA wird von den verschiedenen Autoren relativ willkürlich festgelegt und sagt über positive und negative Serumproben noch nichts aus. Während einige Autoren einfach die Extinktion bei einer bestimmten Serumverdünnung als Titer festlegen [23, 88] oder die Extinktionen einer Serumverdünnung mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren [35, 39], geben andere als Titer $-10 \log$ derjenigen Serumverdünnung an, die gerade noch einen bestimmten Betrag über dem

Hintergrund liegt [17, 32, 56, 79]. CARLSON et al. [18] verwenden als Titer die Serumverdünnung, die nach 100 Minuten Reaktionszeit mit dem Substrat eine Extinktion von 2,0 erreicht. MEYER und BRUNNER [106] orientieren sich bei Listeriose ELISA am käuflichen Anti Listeriose O-Serum. Die Extinktion, die bei Verdünnung dieses Serums $1:10^4$ eine gerade noch sichtbare Verfärbung anzeigt, wird als Titergrenzwert angegeben. RISSING et al. [129] geben ihre Resultate als ELISA Index (EI) an. Dazu werden die Absorptionen bei drei Testverdünnungen (1:128, 1:256, 1:512) addiert, dividiert durch die Summe der Absorptionen bei gleichen Verdünnungen des positiven Referenzserums und anschließend mit 100 multipliziert.

Mit den Schwierigkeiten, die Labordaten, die man mit dem ELISA erhält, dem Kliniker in geeigneter Weise zu übermitteln, setzten sich de SAVIGNY und VOLLER [136] 1980 auseinander.

Die richtige Bewertung eines Titers als positiv oder negativ setzt die Kenntnisse der Titer in der gesunden Normalbevölkerung voraus. BULLOCK und WALLS [14] jedoch orientieren sich nicht an negativen Kontrollseren. Sie setzten alle Serumproben mit einer Extinktion größer als 0,5 positiv.

Die verschiedensten Methoden zur Bestimmung der negativen/positiven Grenze wurden verwendet. Das am häufigsten verwendete Verfahren besonders bei einer kleinen Zahl von Referenzseren ist das Bestimmen einer Mindestextinktion, die beim zweifachen oder dreifachen Wert des Mittelwertes der negativen Gruppe liegt [23, 56].

Eine bevorzugte Methode bei einer größeren Zahl von Referenzseren setzt als Grenzwert den mittleren negativen Wert der gesunden Kontrollpersonen plus zwei oder drei Standardabweichungen des Mittelwertes [39, 129, 158]. Diese Verfahren setzen aber eine Normalverteilung

in der Normalbevölkerung voraus, so daß bei zwei oder drei Standardabweichungen falsch positive Ergebnisse auftreten.

Wir untersuchten die Antikörpertiter bei acht gesunden Erwachsenenserum und einem negativen Kinderserum mit dem K-Mischantigen aus sieben häufigen K-Antigenen von *K. pneumoniae* (K 2, K 3, K 7, K 13, K 28, K 55 und K 74) und bildeten die Quotienten aus den Extinktionen der Erwachsenenserum mit dem negativen Kinderserum. Im Ig A ELISA ergab sich eine mittlere Extinktion von $0,216 \pm 0,029$, ein mittlerer Quotient von $1,381 \pm 0,230$; im Ig G ELISA betrugen die Werte $0,552 \pm 0,114$ bzw. $1,805 \pm 0,424$ und im Ig M ELISA $0,353 \pm 0,067$ bzw. $1,581 \pm 0,265$.

Da kein Probandenserum höhere Quotienten zeigte als 2,0 im Ig M, 2,0 im Ig A und 2,5 im Ig G ELISA, nahmen wir diese Quotienten als Grenzwerte.

Da wir nur eine kleine Zahl von Probandenserum untersuchten, fanden wir es geeigneter, uns nicht an den Standardabweichungen zu orientieren, sondern an den überhaupt bei Probanden erreichten Maximalextinktionen bzw. Maximalquotienten. Die so festgelegten Grenzwerte entsprechen aber in etwa denen, die man bei Annahme einer Normalverteilung mit $\bar{x} \pm 2s$ bestimmen würde.

Eine andere Möglichkeit ist die Orientierung nicht nur an negativen Probandenserum, sondern auch an positiven Seren.

So setzen VESIKARI et al. [157] im *Yersinia enterocolitica* ELISA die Aktivität eines positiven Referenzserum als 100 %. Die ELISA Resultate werden als % Werte bezogen auf das Referenzserum angegeben und die Grenzwerte für Ig M 21 %, Ig G 7 % und Ig A 8 % durch Testen negativer Serumproben bestimmt.

Alle bisher genannten Verfahren haben den Nachteil, daß sie nicht berücksichtigen, daß bei höheren Antikörpertitern die Resultate mit dem ELISA nicht mehr linear proportional sind.

FELGNER [48] schlägt vor, die Antikörperaktivität des Patientenserums als "Multiple of Normal Activity" (MONA) anzugeben. Dazu wird eine positive Standardreferenzprobe titriert und die Relation zwischen der Extinktion und der Antikörperaktivität analysiert. Die parabolische Exponentenkonstante n wird von den Extinktionen des positiven Referenzstandards bei der optimalen Arbeitsverdünnung (A_1) und bei einer höheren Verdünnung (A_2) nach folgender Beziehung

$$n = \log \frac{\text{Verdünnungsfaktor}}{\log A_1 - \log A_2}$$

errechnet. Der Verdünnungsfaktor ist die Serumverdünnung für A_2 relativ zu A_1 .

Als MONA wird dann

$$\left(\frac{A_x}{A_{\text{neg}}} \right)^n$$

angegeben, wobei A_x die Extinktion des Testserums und A_{neg} die Extinktion des negativen Referenzpools darstellt.

LEINIKKI et al. [98, 99] geben die "Effektive Dosis" an, indem sie den Titer eher von der linearen Phase der Titrationskurve aus bestimmen und den Titer als Differenz der Verdünnung (Brigg's Logarithmus) zwischen den Titrationskurven des Testserums und der positiven Referenzprobe angeben.

4.2. Vergleich der Methoden zur Antikörperbestimmung

4.2.1. Empfindlichkeit

Vergleicht man die Ergebnisse der Antikörperbestimmung mit CIE (= Counter-Current Immunoelectrophoresis, Gegenstromimmunelektrophorese), passiver Hämagglutination nach NETER bzw. ERIKSEN und ELISA, so nahm die Empfindlichkeit in der Reihenfolge CIE, passive Hämagglutination nach ERIKSEN, Hämagglutination nach NETER, ELISA zu.

Dies steht im Einklang mit SCHMOLLE [139], der als untere Nachweisgrenze der Antikörper bei CIE 100 - 400 $\mu\text{g/l}$, bei passiver Hämagglutination 10 - 30 $\mu\text{g/l}$ und im ELISA 1 $\mu\text{g/l}$ angibt.

Von 42 Patienten waren im ELISA nur acht (19,0 %) sowohl im Ig G als auch im Ig M und Ig A negativ. Fünf der 42 Patienten (11,9 %) waren in mindestens einer Serumprobe positiv in einer Immunglobulinklassen, 14 Patienten (38,1 %) in zwei Immunglobulinklassen. In allen drei getesteten Immunglobulinklassen positiv zumindest in einer Serumprobe waren 15 Patienten (35,8 %).

In der CIE dagegen reagierten die Serumproben von 28 Patienten (67 %) negativ; die Serumproben zeigten noch nicht einmal im konzentrierten Serum ein Präzipitat.

Betrachtet man nur jeweils die erste Serumprobe der Patienten, so waren nur 10 Patienten (23,8 %) in der CIE positiv. Von den vier Patienten, die erst später im Beobachtungszeitraum positiv wurden, waren im ELISA bei der ersten Probe zwei nur im Ig M positiv (Patient 2, 3) und einer nur im Ig A positiv (Patient 5). Bei Patient 41 war der ELISA in allen drei Immunglobulinen negativ ausgefallen. Dies steht in Einklang damit, daß Ig G Antikörper größere präzipitierende Eigenschaften besitzen als Ig M und Ig A - Antikörper [9] und bei der

Immunantwort gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* erst nach den Ig M Antikörpern gebildet werden. Von den vier Patienten, deren Serumproben erst im weiteren Beobachtungszeitraum in der CIE positiv reagierten, waren zwei dann in allen drei Immunglobulinen positiv und zwei in zwei Immunglobulinen (einmal Ig A und Ig M, einmal Ig G und Ig M).

Betrachtet man nur die erste Serumprobe der Patienten im ELISA, so waren 10 Patienten (23,8 %) in allen drei Immunglobulinen negativ. Bei drei von den zehn Patienten konnten weitere Serumproben gewonnen werden. Ein Patient erreichte dann knapp den Grenzwert für Ig A; ein Patient zeigte einen deutlichen Anstieg im Ig G und Ig M. Der dritte Patient war aber auch nach zwei bzw. fünf Wochen noch in allen Immunglobulinen negativ.

In der ersten Serumprobe waren damit im ELISA 76,2 % positiv gegenüber 23,8 % in der CIE. Bei Berücksichtigung aller Serumproben ergibt sich die Relation 81,0 % gegenüber 33 %. Aus diesen Daten folgt: Sollte für die Diagnostik künftig eine Antikörperbestimmung gegen *K. pneumoniae* bei Mischinfektionen mit *K. pneumoniae* zur Sicherung des tatsächlichen Erregers eingeführt werden, so wäre bei Verwendung der CIE als Test darauf zu achten, daß nach ein bzw. zwei Wochen weitere Serumproben getestet werden, um falsch negative Aussagen zu vermeiden.

Zwischen den Titern in CIE und den Extinktionen im Ig A und Ig M ELISA bei Serumverdünnung 10^{-2} fand sich ein auf dem 1 % Niveau signifikanter Zusammenhang ($r = 0,441$, $p < 0,01$ bzw. $r = 0,405$, $p < 0,01$). Im Ig G ELISA fand sich nur in der Serumverdünnung 10^{-3} ein auf dem 1 % Niveau signifikanter Zusammenhang ($r = 0,390$, $p < 0,01$). Die schlechtere Korrelation zwischen den CIE Titern und dem Ig G ELISA ist durch eine nicht mehr vorhandene Proportionalität zwischen dem Gehalt an

spezifischen Ig G Antikörpern und den dazugehörigen Extinktionen im ELISA in der Serumverdünnung $1:10^2$ bei Vorliegen einer großen Zahl von spezifischen Ig G Antikörpern bedingt.

Beide Hämagglutinationstechniken, nach ERIKSEN und nach NETER, zeigten sich deutlich empfindlicher als CIE. Während in CIE der höchste Titer 1:32 betrug, wurden in der passiven Hämagglutination Titer bis 1:40960 erreicht.

Von den getesteten sechs im ELISA hochtitrigen, zwei im Ig A positiven und einer in allen drei Immunglobulinen negativen Serumproben waren alle sechs hochtitrigen Seren sowohl in der CIE als in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN positiv. Eine Serumprobe, die im ELISA nur im Ig A positiv, in CIE negativ war, reagierte in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN positiv.

In der Hämagglutination nach NETER reagierte ein Patient von den sechs im ELISA hochtitrigen getesteten negativ. Dieses Serum, mit hohen Titern im Ig A und Ig G, das im Ig M ELISA mit einem Quotienten von 2,1 gerade noch den Grenzwert erreichte, war in der Hämagglutination nach ERIKSEN positiv, obwohl im allgemeinen die erreichten Titer mit der NETER Methode höher lagen.

Daß nicht nur Ig M Antikörper zum Hämagglutinationstiter beitragen, zeigt das Serum eines Patienten mit homologem Titer von 1:320 mit hohen Titern im Ig G und Ig A ELISA, aber negativem Ig M ELISA und einem erniedrigten Gesamt-Ig M von 37 IU/ml.

Zwischen den beiden verwendeten passiven Hämagglutinationsmethoden bestand nur ein statistisch auffälliger Zusammenhang ($r = 0,545$; $p < 0,05$).

Während die Ergebnisse der passiven Hämagglutination mit präparierten K-Antigenen und CrCl_3 nach ERIKSEN gut

korrelierten mit den Ergebnissen im ELISA ($r = 0,715$ bzw. $0,809$ bzw. $0,852$ für Ig M bzw. Ig A bzw. Ig G, $p < 0,01$), ergaben sich bei der Hämagglutination nach NETER verglichen mit ELISA keinerlei signifikante Zusammenhänge (Ig M $r = 0,363$, $p < 0,1$ / Ig A $r = 0,327$, $p < 0,01$ / Ig G $r = 0,433$, $p < 0,05$). Da zwischen Hämagglutination mit NETER Antigen und dem ELISA mit präpariertem K-Antigen von *K. pneumoniae* keinerlei signifikante Zusammenhänge bestehen, kann gefolgert werden, daß in der autoklavierten und dann abzentrifugierten Bakteriensuspension (NETER Antigen) die hitzestabilen Lipopolysaccharide in der entstandenen Antigenmischung als Antigene dominieren. Deshalb liegen auch die Korrelationskoeffizienten zwischen der passiven Hämagglutination nach NETER mit verschiedenen *E. coli* O-Serotypen und den dazugehörigen Extinktionen im *E. coli* LPS ELISA wesentlich besser. Für den Ig A ELISA fand sich nur ein statistisch auffälliger Zusammenhang mit $r = 0,578$ ($p < 0,05$). Für den Ig M ELISA ergab sich jedoch $r = 0,653$ ($p < 0,01$) und für den Ig G ELISA $r = 0,774$ ($p < 0,001$).

4.2.2. Spezifität

Kreuzreaktionen im ELISA innerhalb der K-Antigene von *K. pneumoniae* spiegelten sich auch in der passiven Hämagglutination nach ERIKSEN wider. Zwischen homologen und heterologen Reaktionen war aber gut zu differenzieren. Bei Verwendung des NETER-Antigens jedoch traten die Reaktionen mit heterologen Antigenen wesentlich stärker hervor, so daß zwischen heterologen und homologen Reaktionen zu unterscheiden oft nicht mehr möglich war.

Im ELISA ist eine Kreuzreaktion zwischen Antiserum K 2 und Antigen K 28 erkennbar (vgl. Abb. 20 und 21). Das Antiserum K 28 des Patienten 3 reagierte aber nicht mit Antigen K 2. Die qualitative Zuckerbausteinanalyse dieser K-Antigene zeigt eine ähnliche Zusammensetzung [114] aus Glucuronsäure, Galactose, Glucose und Mannose. 6 - Desoxyhexosen konnten in keinem der Antigene nachgewiesen werden, wobei man aber betonen muß, daß qualitativ gleiche Zuckerzusammensetzung nicht mit serologischer Identität einhergehen muß.

Die Ergebnisse über die "repeating units" von K 2 [5, 50, 149, 150, 151] und K 28 [29] zeigen eine gewisse Ähnlichkeit. Es kommen aber keine exakt gleichen Konfigurationen bei beiden K-Antigenen vor. Während Mannose $1 \rightarrow 2$ α glykosidisch mit Glucose in K 28 verknüpft ist, ist bei K 2 Mannose $1 \rightarrow 4$ β glykosidisch mit Glucose verbunden. Während in K 28 Glucuronsäure $1 \rightarrow 2$ β glykosidisch mit Mannose verbunden ist, ist in K 2 Glucuronsäure $1 \rightarrow 3$ α glykosidisch verknüpft mit Mannose.

Die Absorptionsversuche mit Serum des Patienten 18 (Anti K 13) an intakte Bakterien von *K. pneumoniae* K 3 und an K-Mischantigen zeigten, daß die Ig M Antikörper eine höhere Unspezifität besitzen als die Ig G Antikörper. Die homologen Reaktionen im Ig M ELISA fielen nach Absorption deutlich schwächer aus im Gegensatz zu den homologen Reaktionen im Ig G ELISA. Die Absorptionsversuche veranschaulichen das Auftreten häufigerer Kreuzreaktionen der Ig M Antikörper, wie von HENRIKSEN [76] beschrieben.

Bei den 12 verschiedenen bekannten O-Serotypen von *K. pneumoniae* [80, 90, 118] sind einige Kreuzreaktionen mit O-Antigenen von *E. coli* bekannt. [80, 90, 118]. So sind *Klebsiella* O 1 identisch mit *E. coli* O 19b, *Klebsiella* O 3 identisch mit *E. coli* O 9 und *Klebsiella* O 5 identisch mit *E. coli* O 8. *Klebsiella* O 4 zeigt eine

starke Verwandtschaft mit *E. coli* O 20. Aus den oben genannten Kreuzreaktionen und daraus, daß bei Klebsiellen der O-Serotyp O 1 am häufigsten vorkommt, ist zu folgern, daß Antikörper, die bei Infektionen mit *K. pneumoniae* auch gegen das Lipopolysaccharid gebildet werden, die Interpretation der Kreuzreaktionen zwischen K-Antigenen von *K. pneumoniae* und O-Antigenen von *E. coli* nicht erschweren dürften. Strukturbedingte Kreuzreaktionen zwischen K-Antigenen von *K. pneumoniae* und O-Antigenen von *E. coli* O 1, O 2, O 4, O 6, O 7, O 14, O 55 und O 75, die die Interpretation der Antikörperbestimmung gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* erschweren würden, konnten wir weder mit der passiven Hämagglutination noch mit dem ELISA nachweisen. Zu einer endgültigen Klärung dieser Frage wären aber noch hochtitrige Anti *E. coli* LPS-Humanseren mit den entsprechenden K-Antigenen von *K. pneumoniae* zu testen.

Die Antikörper, die wir im *E. coli* LPS ELISA nachweisen konnten, beruhten nicht auf strukturbedingten Kreuzreaktionen, sondern waren Ausdruck vorhergegangener oder synchroner Infektionen mit *E. coli*. Entgegen der herkömmlichen Meinung, daß gegen LPS vor allem Antikörper der Klasse Ig M gebildet werden, konnten wir im LPS ELISA Antikörper in allen drei getesteten Immunglobulinlinklassen nachweisen, in Einklang mit ROSSEN et al. [132] und TURNER und ROWE [155], die nach Immunisierung mit *Salmonella typhi* ebenfalls Ig G, Ig A und Ig M Antikörper fanden.

Gegen *E. coli* O2 waren im ELISA die höchsten Titer nachzuweisen. Nach SIETZEN [143], MÖSSNER et al. [108] und BUDDÉ [13] ist *E. coli* O 2 der am häufigsten aus Stuhlproben und Urin isolierte O-Serotyp. Die Angaben schwanken zwischen 7 % [143, 13] und 18 % [108]. Bei PEDDIE, BETTELHEIM und CHERESHESKY [121], die Urinproben

von Patientinnen mit asymptomatischer und symptomatischer Bakteriurie untersuchten, rangierte der Serotyp O 2 erst an dritter Stelle nach O 75 und O 6.

Der Serotyp E. coli O 14, den wir in der passiven Hämagglutination nach NETER als Indikator für Antikörper gegen das "enterobacterial common antigen", von KUNIN et al. [94] 1962 entdeckt, mittesteten, zeigte Titer zwischen 1:160 und 1:10240, den anderen O-Serotypen entsprechend. Den höchsten Titer zeigte das Patientenserum (Patient 18), das auch bei allen anderen mitgetesteten O-Serotypen von E. coli die höchsten Titer zeigte. Vergleicht man die Höhe des Titers gegen E. coli O 14 mit den Titern gegen die anderen E. coli Serotypen, so nehmen bei Zunahme des Titers gegen E. coli O 14 auch die Titer gegen die anderen mitgetesteten O-Serotypen zu.

Da bekannt ist, daß nur die gegen das "enterobacterial common antigen" von E. coli O 14 gebildeten Antikörper breite Kreuzreaktionen mit Lipopolysacchariden in der passiven Hämagglutination zeigen, während andere Anti O-Seren nicht mit dem O 14 Antigen reagieren [95], lassen sich die hohen Titer des Patienten 18 in der passiven Hämagglutination als spezifische Antikörper gegen das "enterobacterial common antigen" deuten. MALKÄMAKI [101] konnte 1981 mit einer Enterobacterial Common Antigen (ECA) - Präparation von Salmonella typhimurium in der passiven Hämagglutination bei zwei Patienten mit K. pneumoniae Sepsis Anti ECA-Titer nachweisen, die durch gereinigtes ECA gehemmt werden konnten mit einer Titerreduktion auf 1/16 bzw. 1/32.

4.2.3. Störfaktor Rheumafaktor im ELISA

Rheumafaktoren "finden sich in allen drei großen Immunglobulinklassen, - sie reagieren exklusiv mit Antigen-determinanten des Fc-Teils des Ig G-Moleküls, - im Serum sind praktisch nur die Ig M-RF agglutinierend, nicht aber die Ig A und die Ig G - RF" [47]. Durch die klassischen Agglutinationreaktionen werden fast ausschließlich die Ig M - RF erfaßt.

Die Untersuchung der Serumproben auf Rheumafaktor mit RF-Latex-Reagenz war bei fünf der 42 Patienten (12 %) positiv. Die gefundenen Titer lagen zwischen 1:60 und 1:200. Bei keinem der Patienten war eine rheumatische Anamnese eruierbar. Das Durchschnittsalter der betroffenen Patienten betrug 67 Jahre. Nach WALLER et al. [161] zeigen unter den unter 30 Jahre alten Probanden 3 % ein im Latextest positives Resultat. In der Gruppe von 30 bis 60 Jahre steigt der Anteil auf 4 %, während bei den über Sechzigjährigen der Anteil stark ansteigt auf 28 %. Unter unseren 42 Patienten betrug der Anteil der RF positiven über 60 Jahre alten Patienten 4/22 (18 %). Bei Leberkrankheiten, einigen Malignomen, Endocarditis lenta und chronischer Bronchitis kommen niedrig titrige Ig M - RF häufiger vor [47]. Von drei RF positiven Patienten ist bei zweien eine chronische Emphysebronchitis und beim dritten ein chronischer Alkoholabusus bekannt.

Rheumafaktor im Serum (Ig M gegen Ig G gerichtet) in ausreichender Menge sollte durch Bindung an spezifische Antikörper der Immunglobulinklasse Ig G den Titer im Ig M ELISA fälschlicherweise erhöhen und im Ig G ELISA erniedrigen.

Nur bei einem der fünf RF positiven Patienten zeigte sich diese Situation. Bei Patient 33 war nach Absorption des Rheumafaktors an RF Latex Reagenz der vor

Absorption positive Ig M Test negativ geworden. Der Quotient betrug vor der Absorption in der Serumverdünnung $1:10^2$ 3,2 bzw. 2,1 und sank nach Absorption auf Werte um 1,6 bzw. 1,5. Das Serum dieses Patienten war im Ig G ELISA mit einem Quotienten von 6,2 in der Serumverdünnung $1:10^2$ und im RF Test mit Titer von 1:100 so hoch positiv, daß im ELISA sich viele Rheumafaktormoleküle an spezifische Antikörper der Ig G Klasse, die bereits an K-Antigen gebunden waren, banden, und dann im Ig M Test fälschlicherweise als spezifische Antikörper der Klasse Ig M gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* erschienen.

Im Ig G ELISA zeigten sich keine eindeutig höheren Extinktionen nach Absorption des Rheumafaktors, wie es zu erwarten wäre. Jedoch ist bei der großen Menge spezifischer Ig G Antikörper nicht mehr mit einer proportionalen Beziehung zwischen den spezifischen Antikörpern und der Extinktion zu rechnen.

Schwierigkeiten in der Beurteilung der pathogenetischen Rolle des isolierten *K. pneumoniae* Stammes gab es aber bei diesem Patienten mit klar positiv ausfallendem Ig A und Ig G Test vor und nach Absorption nicht.

Bei Einführung des ELISA in die Diagnostik sollte bei allen Patienten zunächst der Ig A und Ig G Test durchgeführt werden. Ergeben sich bei beiden Tests negative Titer, so sollte vor Durchführung des Ig M Testes zunächst der Rheumafaktor bestimmt werden und, falls positiv, durch Absorption an RF Latexpartikel aus dem Serum entfernt werden.

4.3. Zusammenhang zwischen klinischer Symptomatik und Titern im ELISA gegen K-Antigen von *Klebsiella pneumoniae*

Einen Hinweis auf die Bedeutung spezifischer Antikörper gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* bei Infektionen mit *K. pneumoniae* konnten BULLOWA et al. 1937 [15], also noch vor dem Beginn der antibiotischen Therapie, zeigen.

Bei sechs Patienten mit *Bacillus Friedländeri* (alte Bezeichnung für *K. pneumoniae*) Pneumonie vom Typ A (entspricht Serotyp K 1), die spezifisches heterologes Serum vom Pferd bekamen, mit Beginn der Serumtherapie zwischen dem zweiten und sechsten Tag nach Erkrankungsbeginn, betrug die Letalität 50 %, während von 18 nicht mit spezifischem Serum behandelten Patienten 17 (94 %) verstarben.

Dagegen verstarben bei SOLOMON [147] alle fünf mit spezifischem Serum behandelten Patienten mit Pneumonie. Bei diesen Patienten war bis auf einen erst mit dem vierten bzw. fünften Tag mit der Serumtherapie begonnen worden. Außerdem wurde nur bei zwei Patienten das Serum in der Menge appliziert, daß das menschliche Serum nach Serumtherapie eine positive Agglutinationsreaktion zeigte.

BATSHON et al. [7] konnten 1962 im Tierversuch die protektive Wirkung von Antikörpern gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* zeigen. Sie konnten Mäuse durch aktive Immunisierung mit dem bakteriellen Kapselpolysaccharid K 2 genauso gut schützen wie durch passiv applizierte Antikörper.

Alle fünf Patienten mit bakteriologisch gesicherter Sepsis (Patient 5, 28, 26, 35 und 39) befinden sich in dieser Gruppe. Die Streuherde waren abszedierende

Pneumonie nach Thorakotomie (Patient 5), eitrige Peritonitis (Patient 35), Harnwegsinfekt (Patient 18 und 26) und in einem Fall höchstwahrscheinlich eine Pankreatitis (Patient 39).

Sieben Patienten zeigten einen Harnwegsinfekt (Patient 2, 4, 10, 11, 16, 25, 30), vier Patienten eine Pneumonie (Patient 13, 28, 32, 37) und drei Patienten eine Pneumonie und zusätzlich einen Harnwegsinfekt (Patient 7, 22, 41). Eine Patientin entwickelte nach vaginaler Hysterektomie einen Beckenbodenabszeß und einen Harnwegsinfekt.

Acht Patienten von den 20 waren in mindestens einer Serumprobe in allen drei Immunglobulinen im ELISA positiv. Zwei Patienten waren im Beobachtungszeitraum in jeder Ig Klasse mindestens einmal positiv gewesen.

Patient 18 mit Urosepsis zeigte in allen verwendeten Methoden zur Antikörperbestimmung gegen *K. pneumoniae* die höchsten Titer.

Patient 22 mit Platzbauch, Harnwegsinfekt und Pneumonie nach Resektion einer Narbenstenose bei Z. n. totaler Gastrektomie zeigte in dieser Gruppe den niedrigsten Titer mit grenzwertig positivem Ig A mit Quotient von 2,1 in der vierten Serumprobe rund 11 Wochen nach der ersten Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Sputum und Wundbereich. Sein niedriger Titer bei eindeutigem Krankheitsbild und im Normbereich liegenden Gesamtimmunglobulinspiegeln läßt sich nur durch eine von Anfang an vorhandene Mischinfektion des Patienten mit *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, Enterokokken und *Staphylococcus aureus* erklären, bei der die isolierten *K. pneumoniae* Stämme nur eine untergeordnete Rolle im Infektionsgeschehen spielten. Für eine Kolonisation sprechen auch die im LPS ELISA gegen *P. aeruginosa* LPS O 2 und O 5 negativen Antikörpertiter des Patienten. Vom

Patienten gewonnene *P. aeruginosa* Stämme wiesen den Serotyp 0 2 bzw. 0 5 auf.

Bei den anderen 19 Patienten dieser Gruppe konnte aus den Antikörpertitern klar die das Krankheitsgeschehen bestimmende oder bei Mischinfektionen, wie sie bei Patient 5, 10, 11, 16, 18, 28, 32 und 35 vorlagen, die mitbestimmende Rolle der isolierten *K. pneumoniae* Stämme gezeigt werden. Der Begriff Mischinfektion, wie er hier benutzt wird, umfaßt die Infektionen mit *K. pneumoniae*, bei denen zum Zeitpunkt der Erkrankung am gleichen Infektionsort oder auch an anderer Stelle andere Erreger isoliert werden konnten.

4.3.2. Patienten mit klaren Infektionszeichen und negativem ELISA

Diese Gruppe umfaßt sechs Patienten (Patient 9, 12, 21, 23, 40 und 42), deren Serumproben trotz eindeutigem klinischen Bild mit klaren Infektionszeichen in allen drei getesteten Immunglobulinfraktionen im ELISA negativ waren. Bei allen sechs Patienten wurde *K. pneumoniae* aus dem Sputum isoliert, und die klinische Diagnose lautete Pneumonie. Daß die Titer dieser sechs Patienten nicht erhöht sind, kann folgendermaßen interpretiert werden:

Eine spezifische Antikörperbildung ist normalerweise frühestens nach 5 - 7 Tagen nachzuweisen, meist erst nach zwei bis drei Wochen [26, 92]. KALDOR [87] fand bei der Bestimmung der Serumantikörpertiter bei *Campylobacter Enteritiden* im ELISA bei 59 % der Patienten 6 -7 Tage nach Beginn der Erkrankung meßbare Antikörper, während dieser Prozentsatz nach 10 und mehr Tagen auf 79 % anstieg. Bei *Shigella sonnei* Infektionen [39] waren 14 - 28 Tage nach dem Beginn der Erkrankung 95 %

im Ig A, 85 % im Ig G und 85 % im Ig M ELISA (LPS) positiv.

Bei Patient 12 mit einer postoperativen Pneumonie lagen aber nur drei Tage zwischen der ersten Isolierung von *K. pneumoniae* aus transtrachealer Absaugung und der Serumprobe, so daß daher noch keine Serumantikörper zu erwarten sind. Hinzu kommt eine humorale Abwehrschwäche, die sich in der radialen Immundiffusion in erniedrigtem Gesamt Ig G (81 IU/ml) und erniedrigtem Gesamt Ig M (66 IU/ml) zeigte. In dieser humoralen Abwehrschwäche könnte auch die Ursache für den letalen Ausgang durch eine foudroyant verlaufende Pneumonie zu suchen sein.

Bei Patient 9 lag eine Woche zwischen der Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Sputum und der Serumprobe. Die Immunglobuline waren im Normbereich. Da neben der einmaligen Isolierung von *K. pneumoniae* im Sputum auch *E. coli* und *Enterobacter* spez. sowie im Urin gleichzeitig *E. coli* zu finden waren, spielte die isolierte *K. pneumoniae* im Infektionsgeschehen möglicherweise nur eine untergeordnete Rolle.

Bei Patient 23 mit Aspirationspneumonie bei Schluckstörung bei Zenker'schem Divertikel und Harnwegsinfekt bei liegendem Dauerkatheter wurden neben *K. pneumoniae* *Escherichia coli* und wiederholtemale *Proteus morganii*, *Proteus mirabilis* und Enterokokken isoliert. In keinem Untersuchungsmaterial trat *K. pneumoniae* allein auf. Die Zeitspanne von fünf Wochen zwischen der ersten Isolierung von *K. pneumoniae* und der Serumprobe hätte bei der andauernden Stimulierung des Immunsystems zu einem im ELISA deutlich meßbaren Antikörperanstieg führen müssen, zumal die Gesamtimmunglobuline im Normbereich lagen. Die eindeutig negativen Reaktionen im Ig A und Ig M und der knapp unter dem Grenzwert liegende Ig G ELISA lassen den wiederholt isolierten *Proteus*

morganii Stamm entscheidend für das klinische Bild erscheinen. Das Auftreten von K. pneumoniae muß daher als Kolonisation gedeutet werden. Auch zeigen die Antikörpervläufe bei den anderen Patienten, daß nach dreiwöchiger Stimulation des Immunsystems mit einem zweiwöchigen Intervall bis zur Serumprobe die spezifischen Antikörper auch nicht bereits wieder negativ sein könnten.

Vom Patienten 40 mit akuter Tracheobronchitis und beginnender Bronchopneumonie wurden die Serumproben 10,27 und 47 Tage nach dem Beginn der Erkrankung, die mit Schüttelfrost und Husten angefangen hatte, gewonnen. Daß die Antikörpertiter im ELISA negativ waren, kann damit erklärt werden, daß nach Beginn der Therapie mit Ampicillin der Patient sofort entfieberte und fieberfrei blieb, die klinische Symptomatik also nur kurze Zeit bestand. Da trotz Ampicillinresistenz von K. pneumoniae schnelle Entfieberung unter der Ampicillin-Therapie eintrat, ist es auch fraglich, ob überhaupt K. pneumoniae für das akute Krankheitsbild verantwortlich war. Eine weitere Begründung für die negativen Titer kann in erniedrigtem Gesamt Ig G (108 IU/ml) und erniedrigtem Gesamt Ig M (63 IU/ml) gesehen werden.

Die in allen drei Immunglobulinen im ELISA knapp unter den kritischen Grenzwerten liegende Serumprobe des Patienten 42 mit Bronchopneumonie rechts basal bei Septikämie mit Staphylococcus epidermidis zeigte in der radialen Immundiffusion bei erhöhtem Gesamt Ig A und normalem Gesamt Ig M ein grenzwertig erniedrigtes Gesamt Ig G. Vier Wochen nach dem akuten Beginn der Erkrankung isoliert, wären positive Titer zu erwarten. Eine mögliche Ursache für die negativen Titer ist vielleicht in der humoralen Abwehrschwäche zu sehen, da erst nach 2,5 g Gammavenin^R und Umsetzen der Therapie von Trimethoprim-Sulfamethoxazol auf eine Kombination von Ampicillin

cillin und Tobramycin (isolierte *K. pneumoniae* Ampicillin resistent und Tobramycin empfindlich, jedoch auch Trimethoprim-Sulfamethoxazol empfindlich) entfieberte. Es ist auch denkbar, daß die Sepsis mit *Staphylococcus epidermidis* das Krankheitsbild beherrschte, und der isolierte *K. pneumoniae* Stamm daher das Immunsystem kaum stimulierte.

Die Serumprobe des Patienten 21 mit rezidivierender Sepsis, nach der Krankengeschichte des Patienten wahrscheinlich von wiederholten Aspirationspneumonien ausgehend, lag im ELISA ganz knapp unter den erforderlichen Grenzwerten für Ig A und Ig M. Der Ig G ELISA war eindeutig negativ. Die Werte für die Gesamtimmunglobuline lagen im Normbereich. Bei nur unvollständig eruierbaren klinischen und bakteriologischen Daten des Patienten ist die Rolle des isolierten *K. pneumoniae* Stammes nicht sicher beurteilbar. Aus der Krankengeschichte des Patienten geht hervor, daß aus den zu früheren Zeitpunkten regelmäßig durchgeführten Trachealabstrichen, während der Patient über ein Tracheostoma beatmet wurde, bei Z. n. akutem subduralem Hämatom, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, β hämolysierende Streptokokken, Enterokokken, *Serratia* und *Candida* isoliert werden konnten.

Eine Kolonisation, wie von JOHANSON et al. [85] bei Patienten mit Tracheostoma oder endotrachealer Intubation beschrieben, kann bei diesem Patienten, bei dem auch in einer Stuhlprobe neben *Pseudomonas aeruginosa* *K. pneumoniae* nachgewiesen werden konnte, nicht ausgeschlossen werden. Die Interpretation bei nur einer Serumprobe bei diesem Patienten erschwert die Diskussion. Die Konstellation im ELISA, in dem Ig A und Ig M knapp unter den Grenzwerten lagen, und die Berücksichtigung der langen Persistenz der spezifischen Antikörper, wie

wir sie bei einigen Patienten zeigen konnten, läßt die Möglichkeit zu, daß die Serumprobe vielleicht vor einem deutlich meßbaren Anstieg der Ig M und Ig A Antikörper, der erst später von Ig G Antikörpern begleitet werden würde, gewonnen wurde.

Bei den sechs Patienten mit klaren Infektionszeichen und negativem ELISA, alle an einer Pneumonie erkrankt, waren als Gründe für den negativen ELISA zu finden: In einem Fall eine zu frühgewonnene Serumprobe, in drei Fällen eine Mischinfektion mit *K. pneumoniae*, bei der *K. pneumoniae* nur eine untergeordnete Rolle spielte. In einem weiteren Fall ist der isolierte Ampicillin resistente *K. pneumoniae* Stamm nicht als Verursacher des klinischen Bildes anzusehen bei Besserung des Krankheitsbildes unter Ampicillintherapie. Bei zwei Patienten ist der Nachweis von *K. pneumoniae* als Zeichen einer Kolonisation mit *K. pneumoniae* anzusehen. Bei zwei Patienten konnten erniedrigte Gesamtimmunglobulinspiegel im Serum nachgewiesen werden.

4.3.3. Patienten mit unklaren Infektionszeichen und positiven Antikörpertitern im ELISA

Diese Patienten zeigten alle eine Blutsenkungssteigerung mit/ohne leichter Leukozytose bis 10000 mit/ohne subfebrilen Temperaturen. Sie wiesen zumindest eine Serumprobe mit mindestens in einer Immunglobulinklasse positivem ELISA auf. Diese Gruppe von 13 Patienten umfaßt die Patienten 1, 3, 6, 14, 17, 19, 20, 24, 27, 33, 34, 36 und 38.

Bei acht von den 13 Patienten wurde *K. pneumoniae* aus dem Urin isoliert. Chronische Harnwegsinfekte sind bei drei von den acht Patienten bekannt.

Bei Patient 1 konnte nach einer Urethrotomia interna wegen einer Urethrastenose über ein Jahr lang immer wieder K. pneumoniae oft gleichzeitig mit Proteus mirabilis aus dem Urin isoliert werden. Trotz subjektiver Beschwerdefreiheit zeigen die anhaltend hohen Antikörpertiter in allen Immunglobulinklassen das Vorhandensein und die Persistenz einer Infektion mit K. pneumoniae an.

Bei Patient 36 bei Z. n. transurethraler Resektion eines Blasenpapilloms lag seit mehr als zwei Jahren vor Beginn unserer Untersuchungen ein chronischer Harnwegsinfekt mit K. pneumoniae vor. Trotz wiederholter chemotherapeutischer Therapieversuche war K. pneumoniae nicht aus dem Urin zu eliminieren mit der Folge anhaltend hoher Titer im Ig A und Ig G ELISA ohne jegliche Dynamik durch die anhaltende Stimulierung des Immunsystems. Der negativ ausfallende Ig M Test darf mit deutlich erniedrigtem Gesamt Ig M von 37 IU/ml in Zusammenhang gebracht werden. Vielleicht ist auch hier die Ursache für die Therapiefehlschläge zu suchen.

Auch Patient 3 litt bei stummer Niere links und funktionseingeschränkter Niere rechts an einem chronischen Harnwegsinfekt mit K. pneumoniae. Nachdem der Patient an einer inkarzerierten Leistenhernie links operiert worden war, fand sich zunächst Proteus mirabilis im Urin, der aber bald von K. pneumoniae abgelöst wurde. Erst nach sieben Monaten, bei Beschwerdefreiheit des Patienten, konnte durch Therapie mit Fosfomycin der Harnwegsinfekt beendet werden. Dieser Patient ermöglichte eine optimale Beobachtung der Dynamik der Antikörperbildung gegen K-Antigen von K. pneumoniae.

In der ersten Serumprobe zwei Tage nach der ersten Isolierung von K. pneumoniae nur Ig M positiv, sechzehn Tage später auch Ig G positiv und wiederum sechs Tage später Ig A positiv.

Acht Monate nach der letzten Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Urin war das Serum des Patienten 3 noch im Ig G und Ig M ELISA positiv. Wir konnten nicht bestätigen, daß die Ig M Antikörper wegen ihrer kürzeren Halbwertszeit von 5 - 6 Tagen verglichen mit 20 Tagen bei Ig G Antikörpern [59, 92] schneller im ELISA negativ werden als die Ig G Antikörper.

Bei Patient 14 und Patient 33 lagen Harnwegsinfektionen bei Prostataadenom vor. Patient 14 war nur im Ig A und Ig G positiv im ELISA, bei insgesamt relativ niedrigen Gesamtimmunglobulinkonzentrationen in der radialen Immundiffusion. Die massiv erhöhte Blutsenkung ist bei Verdacht auf eine monoklonale Gammopathie vom kappa Typ nicht eindeutig auf den vorliegenden Harnwegsinfekt zurückzuführen.

Patient 33 zeigte als Hinweis auf bestehende Infektion eine geringgradige Leukozytose und eine Blutsenkungssteigerung, die aber bei bekannter chronischer Bronchitis des Patienten auch auf diese möglicherweise zurückzuführen ist. In der Sputumprobe, die zum Zeitpunkt des Harnwegsinfektes gewonnen wurde, waren keine Eitererreger nachzuweisen. Die in allen drei Immunglobulinklassen hohen Titer im ELISA eine Woche nach der Isolierung von *K. pneumoniae* mit Serotyp K 63 zeigen eine bereits länger bestehende Infektion an. Aus der Krankengeschichte ist ein Harnwegsinfekt mit Enterokokken und *K. pneumoniae* bereits vier Wochen früher bekannt. Über den K-Serotyp dieses Stammes ist aber nichts bekannt. Da die Ursache des Harnwegsinfektes, nämlich das Prostataadenom, in der Zwischenzeit nicht beseitigt worden war, ist an eine Persistenz des gleichen Stammes mit Serotyp K 63 zu denken und so die hohen Titer im ELISA zu interpretieren.

Im Gegensatz zu den letzten Patienten entwickelten Patient 17, 20 und 34 akut einen Harnwegsinfekt.

Patient 34, bei dem in der Anamnese schon früher Harnwegsinfektionen nachzuweisen waren, zeigte bei der Aufnahme zur Korrektur einer Narbenhernie als einzigen Hinweis auf bestehende Infektion klopfempfindliche Nierenlager. Blutbild, Temperaturen und Blutsenkung waren im Normbereich. Im ELISA war nur der Ig M Test positiv; es handelte sich also um einen akuten Infekt, selbst bei fast völliger Beschwerdefreiheit der Patientin.

Patient 17 und 20 entwickelten nach urologischen Eingriffen einen Harnwegsinfekt mit *K. pneumoniae*

Patient 17, der außer einer geringgradigen Leukozytose und einer Blutsenkungssteigerung, die bei dem bekannten cribriformen Prostatacarcinom des Patienten an Aussagekraft verliert, keinerlei Hinweise auf akuten Harnwegsinfekt zeigte, entwickelte Titer im ELISA, die in der Dynamik den bakteriellen Isolierungen entsprachen.

Patient 20 entwickelte eine Bakteriurie nach unterer Nierenpolresektion links bei Nierenbeckenstein links und obturierendem Kelchstein mit Hydrocalix. Durch die präoperative Therapie eines Harnwegsinfektes mit *E. coli* mit Ampicillin und Clavulansäure wurde möglicherweise *K. pneumoniae* selektioniert. Die nur zweimal im Abstand von vier Tagen nachgewiesene *K. pneumoniae* erklärt zusätzlich zu den unklaren Infektionszeichen die relativ niedrigen Titer, die bei Serumproben im Lauf von fast zehn Monaten gesammelt wurden. Nur Ig M und Ig A waren im ELISA positiv, wobei im Ig A gerade noch Grenzwert erreicht wurde.

Unsere mit dem ELISA gefundenen Daten über die hoch positiven Antikörpertiter bei Patienten mit unklaren Infektionszeichen und völliger Beschwerdefreiheit lassen erkennen, daß selbst bei einer klinisch asymptomatisch erscheinenden Bakteriurie Antikörper in hohem Maß gebildet werden. Die Antikörperproduktion deutet auf

einen Infekt im Bereich der Niere und nicht der ableitenden Harnwege. Nach JODAL et al. [82] entwickelten 90 % der Kinder mit Zeichen einer aktiven Infektion in den oberen Harnwegen O-Antikörper, während bei Patienten mit Cystitis nur 5 % solche Antikörper entwickelten. Deshalb sollten alle Patienten mit *K. pneumoniae* Nachweis aus dem Urin mit positiven Antikörpertitern selbst bei völliger Beschwerdefreiheit antibiotisch saniert werden, um die Niere vor weiteren Destruktionen zu bewahren.

Bei vier von den 13 Patienten mit unklaren Infektionszeichen, aber positiven Titern im ELISA wurde *K. pneumoniae* aus dem Sputum isoliert. Drei der vier Patienten (Patient 19, 27 und 38) litten an einer chronischen Bronchitis.

Bei Patient 27 mit chronischer Bronchitis und nachgewiesenen Bronchiektasen konnte seit 1972 immer wieder *K. pneumoniae* aus dem Sputum isoliert werden. Ende 1978 erkrankte die Patientin an einer Pneumonie mit *K. pneumoniae* mit K-Serotyp K 3 in beiden Unterfeldern. Anlässlich einer Bronchopneumonie 1,5 Jahre später erneut mit *K. pneumoniae* K 3 wurden Serumproben von der Patientin gewonnen. Eine Kolonisation von Bronchiektasen mit *K. pneumoniae* wurde von FALLON [46] beschrieben. Die Serumproben waren nur im Ig A positiv. Der extrem erniedrigte Gesamt Ig M Wert von 25 IU/ml erklärt den negativen Ig M ELISA und vielleicht auch die Persistenz von *K. pneumoniae* im Sputum dieser Patientin. Über die Serotypen der vor 1978 isolierten *K. pneumoniae* Stämme ist nichts bekannt.

Bei Patient 38 mit globaler Herzinsuffizienz und chronischer Emphysebronchitis, die zu heftiger Dyspnoe führte, ergab die bakteriologische Sputumuntersuchung *K. pneumoniae*. Da bei der zweiten Serumprobe, fast fünf Monate nach der ersten, die Ig G Antikörper im ELISA

weiter angestiegen waren, kann dies als immunologisch wirksame Persistenz von *K. pneumoniae* im Bronchialsystem gedeutet werden. Von der klinischen Seite kann nur eine deutliche Blutsenkungssteigerung als Indikator für entzündlich-infektiösen Prozeß herangezogen werden. Ebenso wie bei Patient 27 waren der Ig M ELISA negativ und die Gesamt Ig M Immunglobuline mit 63 IU/ml erniedrigt.

Das erste Serum des Patienten 19 mit Bronchopneumonie bei chronischer Emphysebronchitis, bei bekannter alkoholtoxischer Leberzirrhose mit portaler Hypertension, war im ELISA in allen drei Immunglobulinklassen positiv. Dies, und daß vier Monate später der Ig M Titer gleichgeblieben und Ig G leicht angestiegen war, zeigt die Relevanz der isolierten *K. pneumoniae* für das Krankheitsgeschehen. Bei Patienten mit Alkoholabusus muß man aber bedenken, daß diese Patienten häufiger mit gramnegativen Stäbchen, darunter vor allem Klebsiella-Enterobacter, im Oropharynx kolonisiert sind [49, 100]; bei 10 von 34 alkoholkranken Patienten konnte *K. pneumoniae* im Oropharynx nachgewiesen werden. Eine aussagekräftige bakteriologische Untersuchung sollte bei diesen Patienten durch transtracheale Aspiration erfolgen, um die relevanten Bakterien im unteren Respirationstrakt nachzuweisen und nicht die den Rachenraum kolonisierenden. Eine Kolonisation dürfte aber nicht zu einer so deutlichen Antikörperbildung, wie bei Patient 19 gefunden, führen.

Die Patientin 24 mit Infekt der oberen Luftwege mit leichter Blutsenkungssteigerung wies grenzwertig erniedrigtes Gesamt Ig M auf. Die im ELISA im Grenzbereich liegenden, gerade noch positiven Ig A und Ig M Titer, bei negativen Ig G Titern, und nicht vorhandener deutlicher Änderung nach zwei bzw. sechs Monaten,

lassen eine Kolonisation wahrscheinlich sein. Die Prävalenz von *Klebsiella* im Rachen bei Normalpersonen außerhalb des Krankenhauses wird mit 1 - 6 % und bei hospitalisierten Patienten ohne respiratorische Erkrankung mit 2 - 19 % [109] angegeben.

Von den vier Patienten mit unklaren Infektionszeichen, aber positiven Titern und Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Sputum ist zusammenfassend festzustellen: In allen drei Immunglobulinklassen positiv war nur ein Patient, in zwei Immunglobulinklassen positiv zwei Patienten (einmal Ig A und Ig G, einmal Ig A und Ig M knapp mit Quotienten von 2,0 jeweils); ein Patient war nur in einer Immunglobulinklasse (Ig A) positiv. Vergleicht man die Mittelwerte aus den jeweils höchsten Quotienten der im ELISA positiven Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Sputum mit klaren Infektionszeichen mit denen mit unklaren Infektionszeichen, so sind die Quotienten im Ig A (bei beiden 2,4) und Ig M (2,5 bzw. 2,3) vergleichbar. Nur im Ig G ist der mittlere Quotient in der Gruppe der Patienten mit klaren Infektionszeichen deutlich höher mit 3,2 gegenüber 2,7. Aus diesem Vergleich ist zu folgern, daß bei unklaren Infektionszeichen die immunogene Stimulation durch *K. pneumoniae* im Respirationstrakt im gleichen Ausmaß erfolgt wie bei klaren.

Bei Patientin 6 mit Tumorrezidiv im kleinen Becken bei Z. n. Rektumamputation, bei der *K. pneumoniae* aus einem Cervixabstrich isoliert wurde, lassen die hohen Ig A und Ig G Titer bereits in der ersten Probe, zwei Tage nach der *Klebsiella*-Isolierung vermuten, daß es sich um einen chronischen Infekt handelte, der schon über längere Zeit vor dem Klinikaufenthalt bestand. Außer Temperaturen bis 38 °C und Leukozytose um 12000 bestanden keine Anzeichen für eine Infektion. Bis auf ein relativ niedriges Gesamt Ig M mit 92 IU/ml, das sich auch im

Ig M ELISA ausdrückte, lagen die Immunglobuline im Normbereich. Nachdem ein weiterer deutlicher Anstieg der spezifischen Antikörper im Ig A und Ig G nach fünf Monaten erkennbar war und für eine Persistenz bzw. weitere Ausbreitung der Infektion sprach, fielen die Antikörpertiter präfinal deutlich ab.

Zusammenfassend ist bei den 13 Patienten mit unklaren Infektionszeichen und positiven Antikörpertitern festzustellen:

Bei 12 Patienten ist trotz fehlender klarer klinischer Infektionszeichen durch den ELISA die immunologisch relevante Rolle der isolierten *K. pneumoniae* nachweisbar. Bei einem Patienten mit "Infekt der oberen Luftwege" und gerade noch positiven Titern im ELISA kann der Klebsiella Nachweis als Nachweis einer Kolonisation des Oropharynx mit *K. pneumoniae* angesehen werden.

4.3.4. Patienten ohne Infektionszeichen mit negativen Antikörpertitern im ELISA

Zwei Patienten zeigten zum Zeitpunkt der Klebsiella-Isolierung keinerlei Infektionszeichen und waren in allen drei Immunglobulinklassen im ELISA negativ.

Bei Patienten 15 wurde drei Tage nach einer vaginalen Hysterektomie bei liegendem Dauerkatheter *K. pneumoniae* aus dem Urin isoliert.

Patient 8 mit Cor pulmonale bei chronischer asthmoider Emphysebronchitis mit der Isolierung von *K. pneumoniae* und *Haemophilus influenzae* aus dem Sputum zeigte röntgenologisch keine Hinweise für frische Infektion. Außer einem erniedrigten Gesamt Ig M von 47 IU/ml lagen die Immunglobuline im Normbereich. Bei diesem Patienten handelt es sich demnach um eine Kolonisation mit *K. pneumoniae*. Bereits drei Jahre zuvor wurde aus dem

Sputum *K. pneumoniae* isoliert. Generell ist bei Patienten mit chronischer Bronchitis Kolonisation mit *K. pneumoniae* häufiger zu beobachten als bei Normalpersonen [109].

Bei beiden Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* ohne Infektionszeichen mit negativen Titern im ELISA handelt es sich um eine Kolonisation. Eine antibiotische Therapie ist daher nicht indiziert. Sie würde das Risiko einer Infektion im weiteren Verlauf nur erhöhen.

4.3.5. Patienten ohne Infektionszeichen, jedoch mit positiven Antikörpertitern im ELISA

Die Anamnese des Patienten 31 mit spastischer Emphysebronchitis und distalem Oesophaguscarcinom bei chronischem Alkohol- und Nikotinabusus läßt an Kolonisation mit *K. pneumoniae* denken. Aus der Krankengeschichte geht zusätzlich hervor, daß bereits zwei Monate früher *K. pneumoniae* aus dem Sputum nachgewiesen worden war. Die nur im Ig M ELISA gerade positive erste Serumprobe mit einem Quotienten von 2,2, neun Tage nach Klebsiella-Isolierung, schließt eine immunologisch wirksam Infektion ohne sichere Infektionszeichen nicht aus. In der zweiten Serumprobe 18 Tage später war der ELISA in allen drei Immunglobulinklassen negativ. Diese Konstellation beweist jedoch eine Kolonisation, wie sie bei chronischem Alkoholabusus und auch chronischer Bronchitis häufig vorkommt.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß die ELISA-Titer gut mit der klinischen Symptomatik sowie klinisch-chemischen, hämatologischen und bakteriologischen Daten korrelierten: 79 % unserer Patienten wiesen klare oder

unklare Infektionszeichen auf und waren im ELISA positiv. 4,8 % unserer Patienten zeigten keinerlei Infektionszeichen und auch negative Antikörpertiter im ELISA. Ein Patient (2,4 %) zeigte nur in der ersten Serumprobe, aber nicht mehr in der zweiten, 18 Tage später, einen grenzwertig positiven Ig M Test, obwohl er keinerlei Infektionszeichen bot. Dieser Patient sollte eher zu der Gruppe der Patienten ohne Infektionszeichen und ohne positive Antikörpertiter gezählt werden. Klare Infektionszeichen, jedoch negative Titer im ELISA zeigten 14 % der Patienten. Die Ursachen waren in einer humoralen Abwehrschwäche, zu früh gewonnener Serumprobe oder in einer Kolonisation mit *K. pneumoniae* zu finden.

4.4. Zusammenhang zwischen Titern im ELISA und Infektionsort

Die 21 Patienten mit Nachweis von *K. pneumoniae* aus dem Urin mit/ohne Begleitinfekt zeigten eindeutig die höchsten Titer im ELISA. Im ELISA wurden im Ig A Quotienten bis 10, im Ig G bis 8 und im Ig M bis 7 gefunden. 76 % der Patienten waren im Ig A, 71 % im Ig M und 62 % im Ig G positiv. Verglichen damit zeigten die Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Sputum mit/ohne Begleitinfekt im Ig A nur 53 %, im Ig M nur 37 % und im Ig G 42 % positive Titer. Während alle Patienten mit *Klebsiella*-Isolierung aus Sputum im Ig A ELISA kleinere Quotienten als 3,5 zeigten, wiesen 10/21 (48 %) Patienten mit Nachweis aus dem Urin größere Quotienten auf. Im Ig M zeigten 16/19 (84 %) der Patienten mit positivem Sputumbefund kleinere Quotienten als 2,5. Nur drei Patienten mit positivem Sputumbefund lieferten Quotienten zwischen 3,0 und 4,5. Von den Patienten mit positiver Urinkultur dagegen wiesen nur 8/21 (38 %) im Ig M Test kleinere Quotienten als 2,5 auf und 5/21 (24 %) zeigten größere Quotienten als 4,5. Während 18/19 Patienten mit positivem Sputumbefund im Ig G ELISA kleinere Quotienten als 4,5 zeigten, lagen von den Patienten mit positivem Urinbefund 9/21 (43 %) über dieser Marke. Nur ein Patient mit Pneumonie reichte mit einem besonders hohen Ig G Quotienten um 7 in diesen Bereich herein.

Daß die Serumantikörper bei Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Urin deutlich höher liegen als bei Patienten mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus dem Sputum, geht auch aus den Mittelwerten der Quotienten (pro Patient nur der jeweils höchste berücksich-

tigt) hervor: im Ig A 4,0 gegenüber 2,1; im Ig G 4,0 gegenüber 2,7; im Ig M 3,3 gegenüber 2,1.

Von den acht Patienten, deren Serumproben im ELISA in allen drei Immunglobulinfractionen negativ waren, wurde bei sechs Patienten *K. pneumoniae* nur aus dem Sputum isoliert, bei einem Patienten aus Sputum und Urin bei Vorliegen einer Mischinfektion und nur bei einem Patienten ohne Infektionszeichen aus dem Urin bei Katheterisierung.

Aus diesen Daten ist zu schließen, daß bei signifikanter Bakteriurie selbst bei asymptomatischer Bakteriurie die immunogene Stimulation größer ist als bei Infektionen, bei denen *K. pneumoniae* aus dem Sputum isoliert wird. Bei der Diskussion des Unterschieds der Titer zwischen Patienten mit positivem Urin- bzw. Sputumbefund sollte aber nicht außer acht gelassen werden, daß nur 4/21 (19 %) Patienten mit Harnwegsinfekt, aber 6/19 (32 %) Patienten mit positivem Sputumbefund deutlich erniedrigte Gesamtimmunglobulinkonzentrationen aufwiesen.

Der immunogene Reiz bei Sepsis mit *K. pneumoniae*, wobei bei einem Patienten gleichzeitig auch Enterokokken isoliert werden konnten, ist noch größer als bei den Harnwegsinfektionen. Alle fünf Patienten mit Sepsis ohne/mit Isolierung von *K. pneumoniae* aus anderen Untersuchungsmaterialien waren im Ig A und Ig M ELISA positiv. Im Ig G waren 3/5 (60 %) positiv. Es fand sich bei den Septikämien nicht ein Fall mit in allen drei Immunglobulinen negativem ELISA. Die höchsten Titer zeigten sich bei einer Patientin mit Urosepsis.

4.5. Vergleich der Titer im ELISA von Monoinfektionen und Mischinfektionen

Ein Ziel unserer Arbeit war, bei Mischinfektionen mit *K. pneumoniae* durch eine Antikörperbestimmung gegen das K-Antigen von *K. pneumoniae* die Rolle des isolierten *K. pneumoniae* Stammes für das Infektionsgeschehen besser interpretieren zu können und so zwischen Infektion und Kolonisation unterscheiden zu können.

Im Gegensatz zu Monoinfektion (hier: Infektion mit *K. pneumoniae*) bezeichnen wir im folgenden als Mischinfektion solche Infektionen mit *K. pneumoniae*, bei denen aus dem gleichen Untersuchungsmaterial noch andere Erreger isoliert werden konnten wie auch solche Infektionen, bei denen an anderem Infektionsort andere Erreger gefunden wurden.

Unter den 12 Patienten mit einer Monoinfektion mit *K. pneumoniae* (Patient 3, 4, 15, 25, 26, 31, 33, 34, 36, 38, 39 und 40) wurde *K. pneumoniae* siebenmal aus dem Urin, dreimal aus dem Sputum und zweimal aus Blutkulturen isoliert. Von den 12 Patienten mit Monoinfektion waren nur zwei Patienten (17 %) im ELISA negativ, d. h. in allen drei Immunglobulinklassen negativ. Dieser Anteil entspricht dem Anteil der negativen Patienten, wenn man alle 42 Patienten berücksichtigt ($8/42 = 19\%$). Negativ von den Patienten mit Monoinfektion war eine Patientin mit symptomloser Bakteriurie nach Hysterektomie bei liegendem Dauerkatheter. Der zweite Patient zeigte eine akute Tracheobronchitis und beginnende Bronchopneumonie, bei dem *K. pneumoniae* aber sicher nicht der Erreger war bei klinischer Besserung unter Ampicillin bei bekannter Ampicillinresistenz von *K. pneumoniae*.

Ein Patient mit spastischer Emphysebronchitis und distalem Oesophaguscarcinom bei chronischem Alkoholabusus wies in den ersten Serumproben nur einen Quotienten im Ig M ELISA von 2,2 auf. In einer achtzehn Tage später gewonnenen Serumprobe war auch der Ig M ELISA negativ. Dies spricht für eine Kolonisation.

Dreißig Patienten zeigten eine Mischinfektion. Bei den Mischinfektionen wurde außer *K. pneumoniae* am häufigsten *E. coli* (19/30) isoliert. In der Häufigkeit folgten *Proteus* spezies und *Pseudomonas aeruginosa* mit jeweils 11 von 30 Patienten, Enterokokken (9/30), *Enterobacter* spezies (8/30), *Staphylococcus aureus* (7/30), *Staphylococcus epidermidis* (4/30), *Haemophilus influenzae* (3/30), *Citrobacter freundii* (3/30) und *Bacteroides* spezies (2/30). Je einmal wurden Pneumokokken, haemolisierende und vergrünende Streptokokken gefunden.

Von den 30 Patienten mit Mischinfektionen waren sechs Patienten (20 %) im ELISA negativ, d. h. in allen drei getesteten Immunglobulinfractionen negativ. Dieser Anteil entspricht dem Anteil der negativen Patienten, wenn man alle 42 Patienten berücksichtigt (19 %).

Nach der obengenannten Definition für Mischinfektionen lassen sich die 30 Patienten in vier verschiedene Gruppen einteilen:

1. im gleichen Untersuchungsmaterial, in dem *K. pneumoniae* gefunden wurde, sind auch andere Erreger nachweisbar
14/30 (47 %)
2. im gleichen Untersuchungsmaterial, aber auch an anderer Stelle, sind andere Erreger nachweisbar
11/30 (37 %)
3. nur an anderem Infektionsort sind zusätzliche Erreger nachzuweisen
2/30 (6,7 %)
4. während des Krankheitsgeschehens kam es zu einem Erregerwechsel
3/30 (10 %)

Bei drei Patienten (Patient 14, 17, 20) mit Harnwegsinfekt kam es im Beobachtungszeitraum zu einem Erregerwechsel. Bei allen drei Patienten waren die Reaktionen der Serumproben gegen K-Antigen von *K. pneumoniae* eindeutig positiv, so daß keine Unklarheit über die Erregernatur des isolierten *K. pneumoniae* Stammes für das Krankheitsbild besteht.

Bei zwei Patienten waren nur an einem anderen Infektionsort andere Erreger als *K. pneumoniae* zu finden. Bei Patient 12 mit postoperativer Ateminsuffizienz und Pneumonie waren intraoperativ bei Resektion eines Sigmacarcinoms im Bauchhöhlenabstrich *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Bacteroides* spezie nachgewiesen worden. Die im ELISA in allen drei Immunglobulinklassen negative Serumprobe des Patienten ist aber hier nicht auf die Mischinfektion zurückzuführen, sondern ist Ausdruck der schlechten humoralen Abwehrlage mit deutlich erniedrigtem Gesamt Ig G und Gesamt Ig M. Abgesehen davon lagen nur drei Tage zwischen der ersten Isolierung von *K. pneumoniae* und der Serumprobe.

Patient 35, den wir in diese Gruppe eingeteilt haben, trotz des Wundabstrichs mit Mischinfektion mit *K. pneumoniae* (über deren Serotyp wir aber keine Daten haben) zwei Monate vor den positiven Blutkulturen mit *K. pneumoniae*, wies im weiteren Beobachtungszeitraum unter anderem positive Sputumbefunde mit *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris* und *Citrobacter freundii* auf. Die Serumproben im ELISA waren eindeutig positiv, so daß über die immunogene Rolle der isolierten Klebsiella-Stämme kein Zweifel besteht.

Bei den 11 Patienten 5, 9, 11, 13, 16, 18, 21, 27, 30, 32, 42, bei denen neben *K. pneumoniae* sowohl am gleichen Infektionsort als auch an anderer Stelle andere Spezies isoliert werden konnten, ist die Rolle der isolierten *Klebsiella*-Stämme für das Krankheitsgeschehen am schwierigsten zu beurteilen.

Drei der 11 Patienten (27 %) waren in allen drei Immunglobulinfraktionen im ELISA negativ. Dieser Prozentsatz liegt höher als der, den man bei Berücksichtigung aller 42 Patienten findet ($8/42 = 19\%$).

Bei Patientin 9 mit Pneumonie und Harnwegsinfekt wurde neben dem einmaligen Nachweis von *K. pneumoniae* aus dem Sputum, mehrmals im Sputum und im Urin *E. coli* nachgewiesen. Bei im Normbereich liegenden Gesamtimmunglobulinen ist dem isolierten *E. coli* Stamm die hauptsächliche Bedeutung für das Krankheitsbild zuzuordnen und der isolierte *K. pneumoniae* Stamm als Kolonisation zu interpretieren.

Der in allen drei Immunglobulinen negative ELISA im Serum des Patienten 42 mit Bronchopneumonie und Septikämie mit *Staphylococcus epidermidis* ist durch die Dominanz des septischen Krankheitsbildes zu erklären.

Bei Patient 21 mit rezidivierender Sepsis, wahrscheinlich von wiederholten Aspirationspneumonien ausgehend, dessen bakteriologische und klinische Daten nur unvollständig zu eruieren waren, ist die Rolle des isolierten *K. pneumoniae* Stammes nicht sicher zu beurteilen. Aus der Krankengeschichte geht hervor, daß, während der Patient über ein Tracheostoma beatmet wurde, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, β haemolisierende Streptokokken, Enterokokken, *Serratia marcescens* und *Candida* aus Trachealabstrichen isoliert werden konnten. Eine Kolonisation, wie von JOHANSON [85] bei Patienten mit Tracheostoma beschrieben, ist bei diesem Patienten wahrscheinlich, da auch in einer

Stuhlprobe neben *Pseudomonas aeruginosa* K. pneumoniae nachgewiesen werden konnte.

Bei den anderen acht Patienten waren die erhaltenen ELISA Titer bis auf drei Patienten (Patient 16, 18 und 30) relativ niedrig. Es konnte aber in allen diesen Fällen gezeigt werden, daß die isolierten Klebsiella-Stämme für das Krankheitsgeschehen zumindest mitverantwortlich waren, und es sich nicht nur um eine nicht die Immunantwort stimulierende Kolonisation handelte.

Bei 14 Patienten mit Mischinfektionen ließen sich andere Erreger zusätzlich zu K. pneumoniae nur im gleichen Untersuchungsmaterial finden. Es handelt sich um die Patienten 1, 2, 6, 7, 8, 10, 19, 22, 23, 24, 28, 29, 37 und 41.

Bei zwei Patienten 19 und 37 wurde außer K. pneumoniae nur noch *Candida albicans* aus dem Sputum isoliert, wobei aber keine quantitativen Angaben vorlagen. Die Serumproben beider Patienten waren im ELISA deutlich positiv, so daß zumindest die Rolle der isolierten K. pneumoniae für das Krankheitsbild eindeutig ist.

Die beiden Patienten 8 und 23 waren in allen drei getesteten Immunglobulinklassen im ELISA negativ.

Patient 8 mit chronischer Emphysebronchitis zeigte keinerlei Infektionszeichen. Außerdem war bei diesem Patienten bereits 26 Monate vorher K. pneumoniae aus dem Sputum isoliert worden.

Bei Patient 23 mit Harnwegsinfekt und Aspirationspneumonie bei Zenker'schem Divertikel wurde nie K. pneumoniae allein isoliert. Immer wurde einer der folgenden Keime zusätzlich gefunden: *Proteus morganii*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* und Enterokokken. Aus den negativen spezifischen Titern im ELISA bei klarer klinischer Symptomatik und im Normbereich liegenden Gesamtimmunglobulinkonzentrationen ist auf eine

kolonisierende Rolle der *K. pneumoniae* bei der ausgeprägten Mischinfektion zu schließen. Mit Zunahme der Isolierung anderer Spezies aus dem gleichen Untersuchungsmaterial steigt die Wahrscheinlichkeit, daß es sich bei der Isolierung von *K. pneumoniae* um eine Kolonisation handelt. Dies zeigt auch Patient 22. Trotz wiederholter Isolierung von *K. pneumoniae* aus Sputum, Wundbereich und Urin, die aber wie bei Patientin 23 immer von anderen Spezies begleitet waren, wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii* sowie *Staphylococcus aureus* und Enterokokken, fand sich nur ein gerade positiver Ig A Test mit einem Quotienten von nur 2,1. Die aus Sputum, Wundbereich und Urin isolierten *K. pneumoniae* Stämme mit Serotyp K 74 und K 20 können daher als generelle Kolonisation des Patienten angesehen werden.

Ebenfalls relativ niedrige Titer, nur positiv im Ig A und Ig M, zeigte das Serum der Patientin 10, die aber eine klare klinische Symptomatik zeigte und keine humorale Abwehrschwäche aufwies. Nach vaginaler Hysterektomie bei liegendem Dauerkatheter konnten aus Urin und von einem Cervixabstrich neben *K. pneumoniae* *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* und Enterokokken isoliert werden. Deren Rolle im Krankheitsgeschehen ist daher größer einzuschätzen als die des isolierten *Klebsiella*-Stammes.

Patient 24 mit Infekt der oberen Luftwege zeigte im Sputum neben *K. pneumoniae* *Haemophilus influenzae*. Die gerade noch im Ig A und Ig M positiven Titer mit Quotienten von 2,0, die nach zwei und sechs Monaten unverändert waren, sprechen für eine Kolonisation.

Sieben Patienten in der Gruppe der 14 Patienten mit Mischinfektionen, bei denen im gleichen Material, aus dem *K. pneumoniae* isoliert werden konnte, auch andere Erreger isoliert wurden, zeigten hohe Titer im ELISA.

Es handelt sich um die Patienten 1, 2, 6, 7, 28, 29 und 41, wobei aber die Patienten 28 und 41 nur im Ig G und Ig M ELISA positiv waren. Die anderen fünf Patienten waren in allen drei Immunglobulinklassen im ELISA positiv. Bei allen diesen Patienten wurde neben *K. pneumoniae* nur eine limitierte Anzahl anderer Spezies isoliert. Auch war bei diesen Patienten die Infektion meistens nur auf einen Ort begrenzt.

Bei den beiden Patienten 1 und 2 handelte es sich um Harnwegsinfekte mit *K. pneumoniae*, bei denen ab und zu auch mal eine andere Spezies nachgewiesen werden konnte. Bei der Patientin 29 mit Beckenbodenabszeß und Harnwegsinfekt nach vaginaler Hysterektomie fanden sich außer der wiederholt isolierten *K. pneumoniae* des Serotyps K 2 nur einmal im Cervixabstrich *Escherichia coli* und einmal im Beckenbodenabstrich vergrünende Streptokokken. Bei der Patientin 6 existierten nur Daten über einen Cervixabstrich, bei dem außer *K. pneumoniae* auch *Bacteroides* spezies und *Proteus mirabilis* gefunden wurden. Die extrem hohen Titer im Ig G und Ig A ELISA, bei negativen Ig M Titern, die sich aber durch ein niedriges Gesamt Ig M erklären lassen, lassen jedoch an einen chronischen, nicht so streng lokalisierten Infekt mit *K. pneumoniae* denken.

Bei den beiden Patienten 7 und 41 mit Pneumonie und Harnwegsinfekt konnten einmal zusätzlich aus dem Sputum Pneumokokken und bei dem anderen Patienten einmal *Enterobacter cloacae* nachgewiesen werden. Bei Patient 28 mit Bronchopneumonie bei Z. n. proximal selektiver Vagotomie bei blutendem Ulcus wurde in der endotrachealen Absaugung neben *K. pneumoniae* *Staphylococcus aureus* gefunden.

Die im ELISA eindeutig positiven Titer lassen keinen Zweifel an den die Infektion verursachenden *Klebsiella*-Isolierungen bei den zuletztgenannten Patienten.

Von den 12 Patienten, bei denen aus den Untersuchungsmaterialien nur *K. pneumoniae* isoliert werden konnte, war in drei Fällen (25 %) der Nachweis von *K. pneumoniae* als Zeichen einer Kolonisation mit *K. pneumoniae* zu deuten, zweimal im Respirationstrakt und einmal in den Harnwegen bei liegendem Blasenkatheter.

Bei 30 Patienten mit Mischinfektionen konnte anhand der Antikörperbestimmung mit dem ELISA in sieben Fällen (23 %) gezeigt werden, daß der Patient mit *K. pneumoniae* kolonisiert war. Die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um eine Kolonisation handelte, stieg mit der Zahl der zusätzlich isolierten Bakterienspezies. Von den sieben Patienten mit Mischinfektion und Kolonisation mit *K. pneumoniae* wurde in vier Fällen *K. pneumoniae* nur aus dem Sputum, in einem Fall aus Sputum und Stuhlprobe, in einem Fall aus Sputum und Urin bei liegendem Blasenkatheter und in einem Fall aus Sputum, Wundabstrich und Urin isoliert. Der Anteil der mit *K. pneumoniae* kolonisierten Patienten war in der Gruppe, in der andere Erreger nur im gleichen Untersuchungsmaterial, in dem auch *K. pneumoniae* gefunden wurde, nachgewiesen wurden, mit 4/13 (31 %) vergleichbar dem Anteil in der Gruppe, in der sowohl im gleichen Untersuchungsmaterial als auch an anderer Stelle zusätzliche Erreger gefunden wurden, 3/11 (27 %).

In einer Inaugural-Dissertation [78], die zwischen Herbst 1980 und Sommer 1981 in der Abteilung für Experimentelle Medizinische Mikrobiologie am Max von Pettenkofer-Institut München entstand, wurde bei zwei Patienten von 23 (8,5 %) eine Kolonisation mit *Pseudomonas aeruginosa* angenommen. Die Bestimmung der spezifischen Antikörper im Serum gegen homologes Lipopolysaccharid von *Pseudomonas aeruginosa* im ELISA war bei diesen Patienten negativ.

Nach unseren Ergebnissen bieten sich beim labordiagnostischen Versuch, zwischen Kolonisation und Infektion mit *K. pneumoniae* zu unterscheiden, zwei Methoden an.

Entscheidet man sich für die Gegenstromimmunelektrophorese zur Bestimmung der spezifischen Antikörper gegen das K-Antigen von *K. pneumoniae*, die man, ohne erst das spezifische Antigen des Patientenstammes bzw. der Serotyppreferenzstämme präparieren zu müssen, schnell und ohne großen Aufwand durchführen kann, muß man allerdings sicherstellen, daß nach ein bis zwei Wochen eine weitere Serumprobe getestet wird, um eine falsch negative Aussage zu vermeiden. Die Ig G Antikörper mit größeren präzipitierenden Eigenschaften als die Ig M Antikörper erscheinen erst nach den Ig M Antikörpern in der Immunantwort gegen K-Antigen von *K. pneumoniae*. Ein Nachteil der Gegenstromimmunelektrophorese ist die relativ geringe Sensitivität. Bei uns reagierten die Serumproben von 28 Patienten (67 %) negativ.

Die zweite, wesentlich sensitivere Methode stellt der ELISA dar. Bei uns reagierten nur die Serumproben von acht Patienten (19 %) in allen drei Immunglobulinfraktionen negativ. Um nicht vor dem ELISA den isolierten *K. pneumoniae* Stamm erst kapseltypisieren zu müssen bei Verwendung der K-Antigene der Serotyppreferenzstämme, sollten die Patientenserum mit Mischantigenpools der häufigen K-Serotypen getestet werden. Zuerst sollten der Ig A und Ig G Test durchgeführt werden. Ergeben sich bei beiden Tests negative Titer, sollte vor Durchführung des Ig M Tests zunächst die Serumprobe auf einen Rheumafaktor hin untersucht werden und, falls positiv, dieser durch Absorption an RF Latexpartikel aus dem Serum entfernt werden.

5. Zusammenfassung

Über einen Zeitraum von 14 Monaten wurden 122 Serumproben von 42 erwachsenen Patienten mit mindestens einmaliger Isolierung von *K. pneumoniae* gesammelt. Diese Seren wurden auf ihren spezifischen Antikörpergehalt gegen Kapselpolysaccharid von *K. pneumoniae* untersucht. Zum Nachweis verwendeten wir einen indirekten Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), den wir bezüglich der Sensitivität und Spezifität mit der Gegenstromimmunelektrophorese und der passiven Hämagglutination nach NETER bzw. ERIKSEN verglichen.

Unsere Untersuchungen führten zu folgendem Ergebnis:

1. Die Empfindlichkeit der verschiedenen Methoden zur Antikörperbestimmung nahm in der Reihenfolge Gegenstromimmunelektrophorese, passive Hämagglutination nach ERIKSEN, passive Hämagglutination nach NETER, ELISA zu.
2. Verglichen mit beiden Hämagglutinationsmethoden erwies sich der ELISA als das spezifischere Verfahren.
3. Es konnten in den Immunglobulinfractionen Ig G, Ig A und Ig M spezifische Antikörper nachgewiesen werden.
4. Die Antikörper der Klasse Ig M zeigten die größten unspezifischen Reaktionen.
5. Die Dynamik der Antikörperbildung ist gekennzeichnet durch einen schnellen Anstieg der Ig M Antikörper innerhalb weniger Tage, gefolgt von den Ig G

und Ig A Antikörpern. In der zweiten Woche nach dem ersten bakteriologischen Nachweis von *K. pneumoniae* werden im Durchschnitt die Maxima in allen drei Immunglobulinen erreicht.

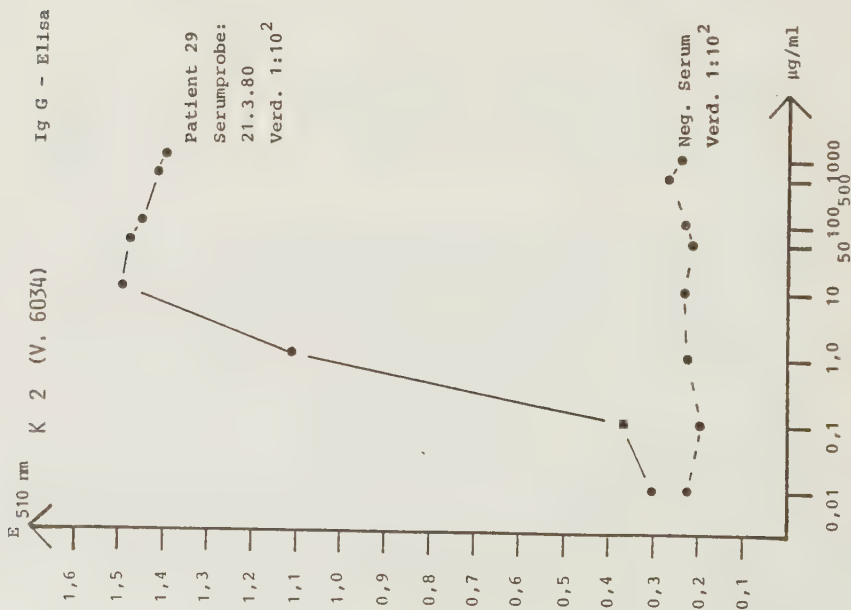
6. Es zeigte sich eine lange Persistenz der spezifischen Antikörper aller drei Immunglobulinfraktionen bis zu einem Jahr nach der letzten Isolierung von *K. pneumoniae*.
7. Bei fünf Patienten konnte in den Serumproben Rheumafaktor nachgewiesen werden. Nur bei einem Patienten allerdings bewirkte der Rheumafaktor einen falsch positiven Ig M Test.
8. Die ELISA-Titer korrelierten gut mit der klinischen Symptomatik.
9. Mit Hilfe der Antikörperbestimmung mit dem ELISA bei Monoinfektionen, aber auch bei Mischinfektionen, ist es in vielen Fällen möglich zu entscheiden, ob ein Patient tatsächlich an einer Infektion mit *K. pneumoniae* erkrankt oder nur kolonisiert ist.
10. Wir konnten bei zehn Patienten (24 %) durch Vergleich der Antikörpertiter im ELISA mit den klinischen, klinisch-chemischen und hämatologischen Parametern zeigen, daß es sich wahrscheinlich um eine Kolonisation handelte.

Anhang

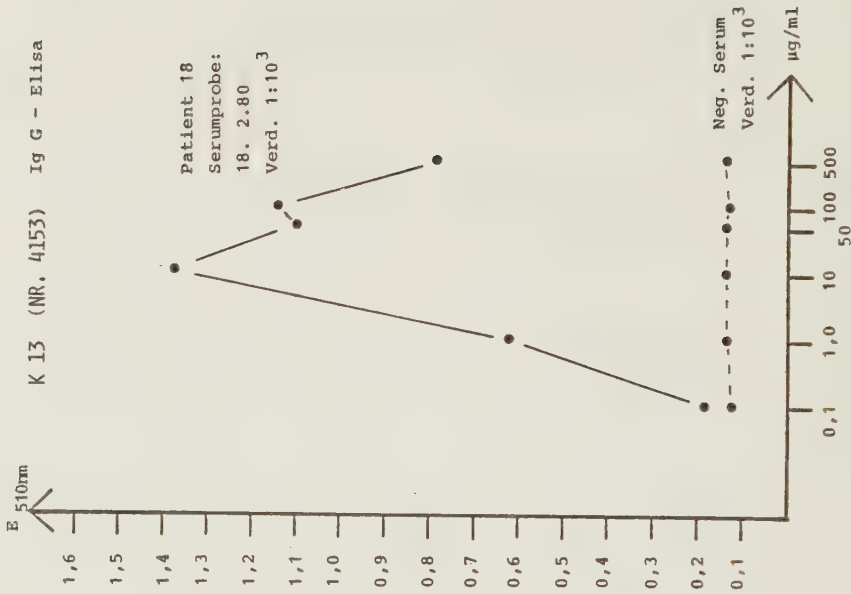
Abbildungen

Abb. 1

K - AG TITRATION



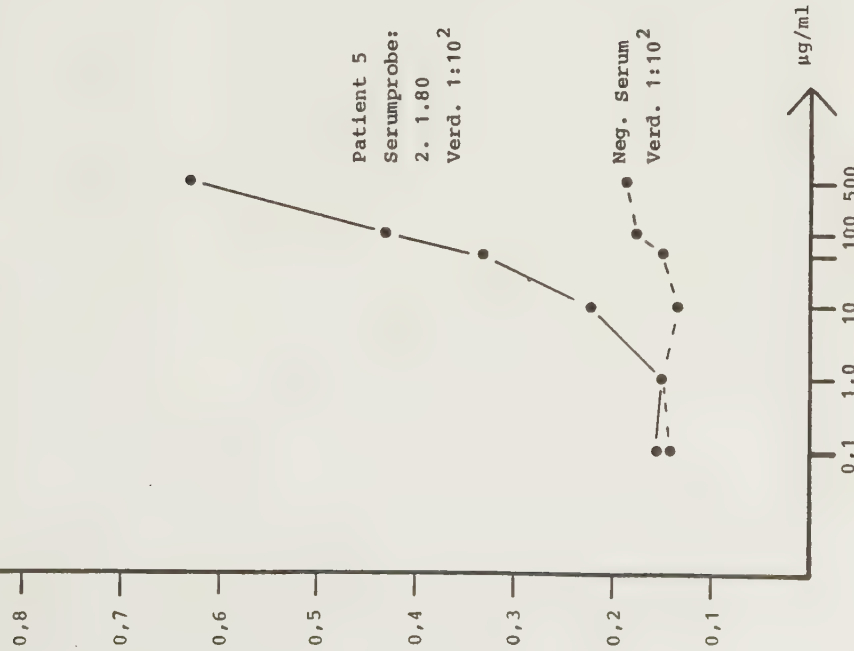
K - AG TITRATION



K - AG TITRATION

K 55 (V. 32365) Ig G - Elisa

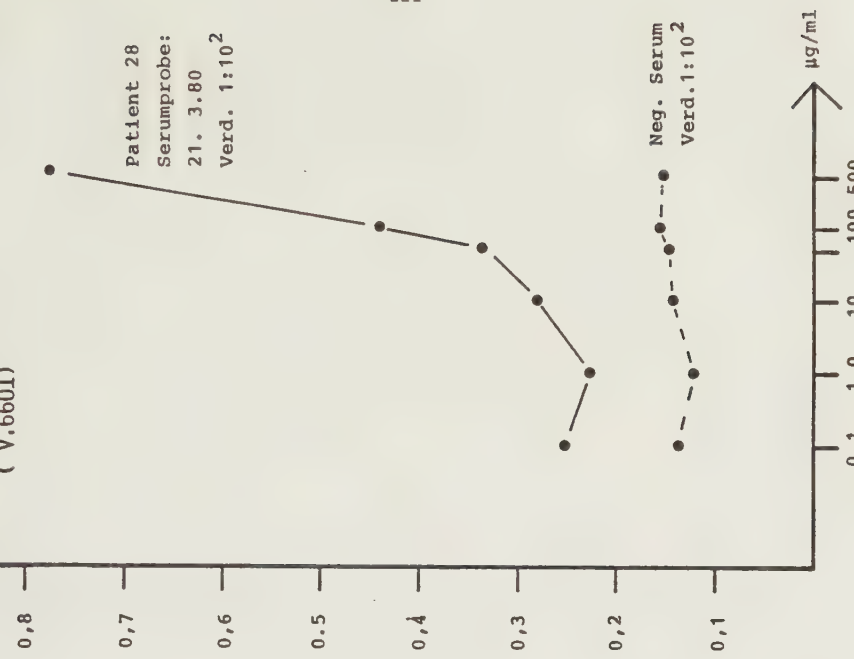
E_{510nm}

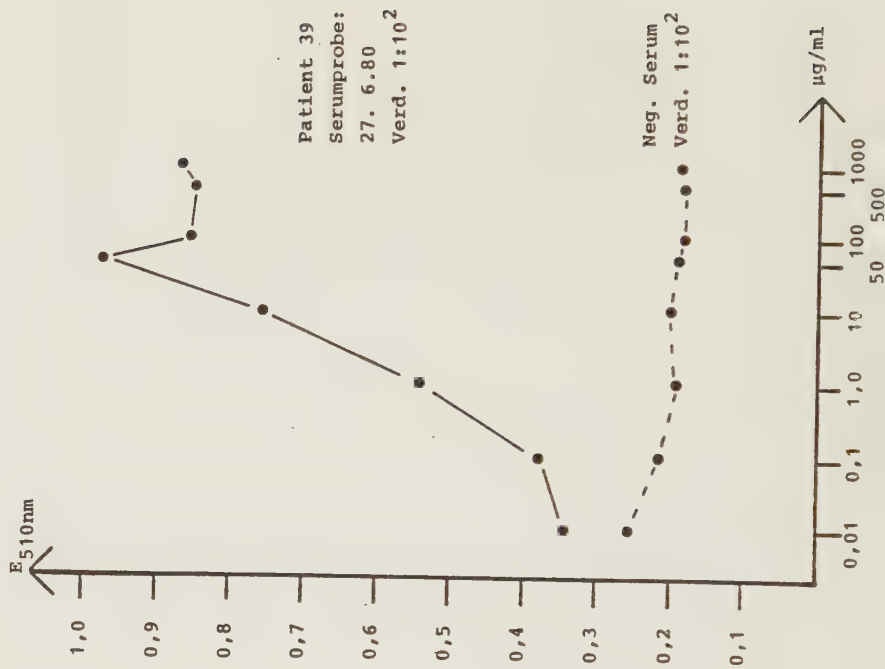
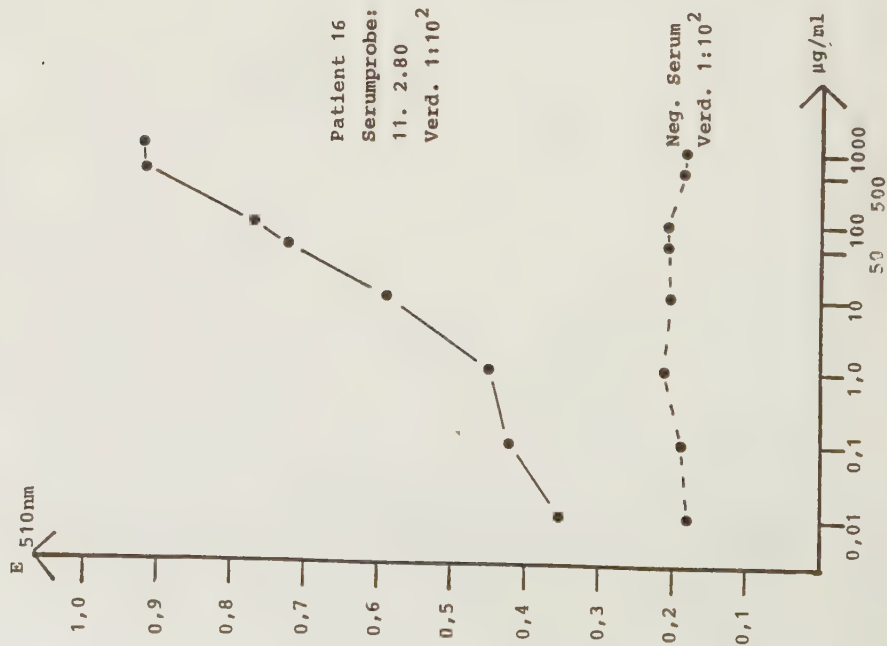


K - AG TITRATION

nicht serotypisierbar Ig G - Elisa
(V. 6601)

E_{510nm}





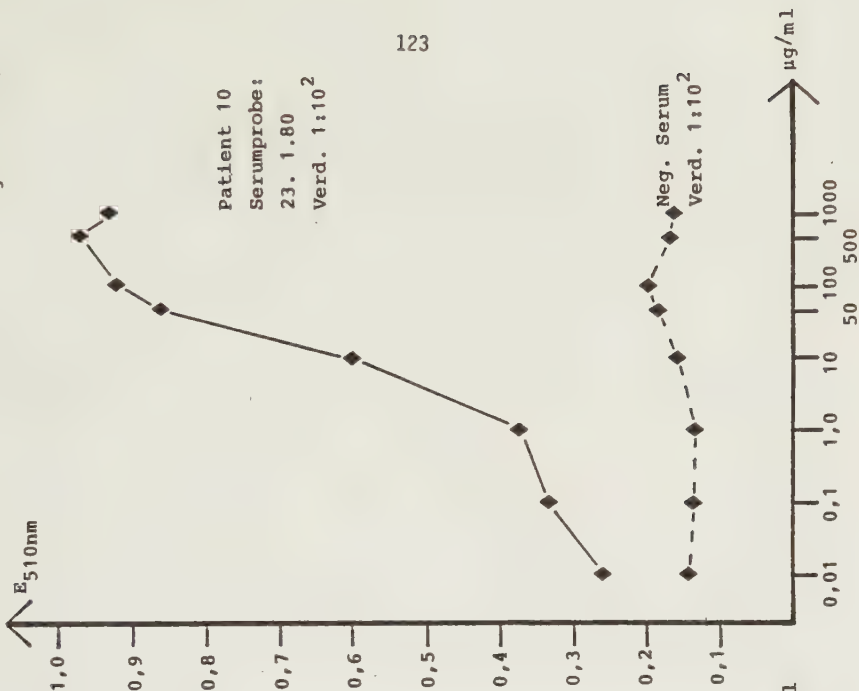
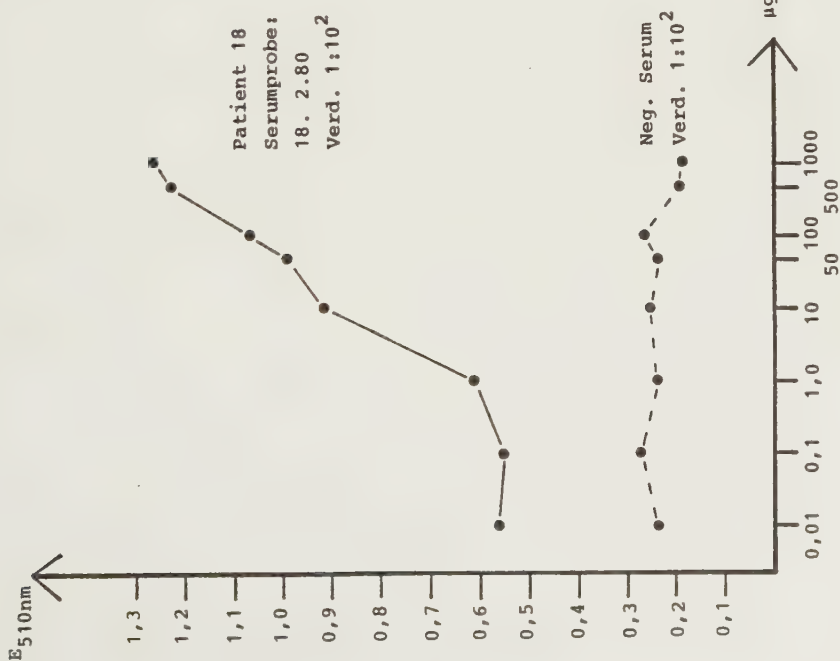


Abb. 5 Anti Human Ig A Peroxidase Konjugat Titration
 Patient 29 Serumprobe: 21.3.80 V. 6034 (K 2)

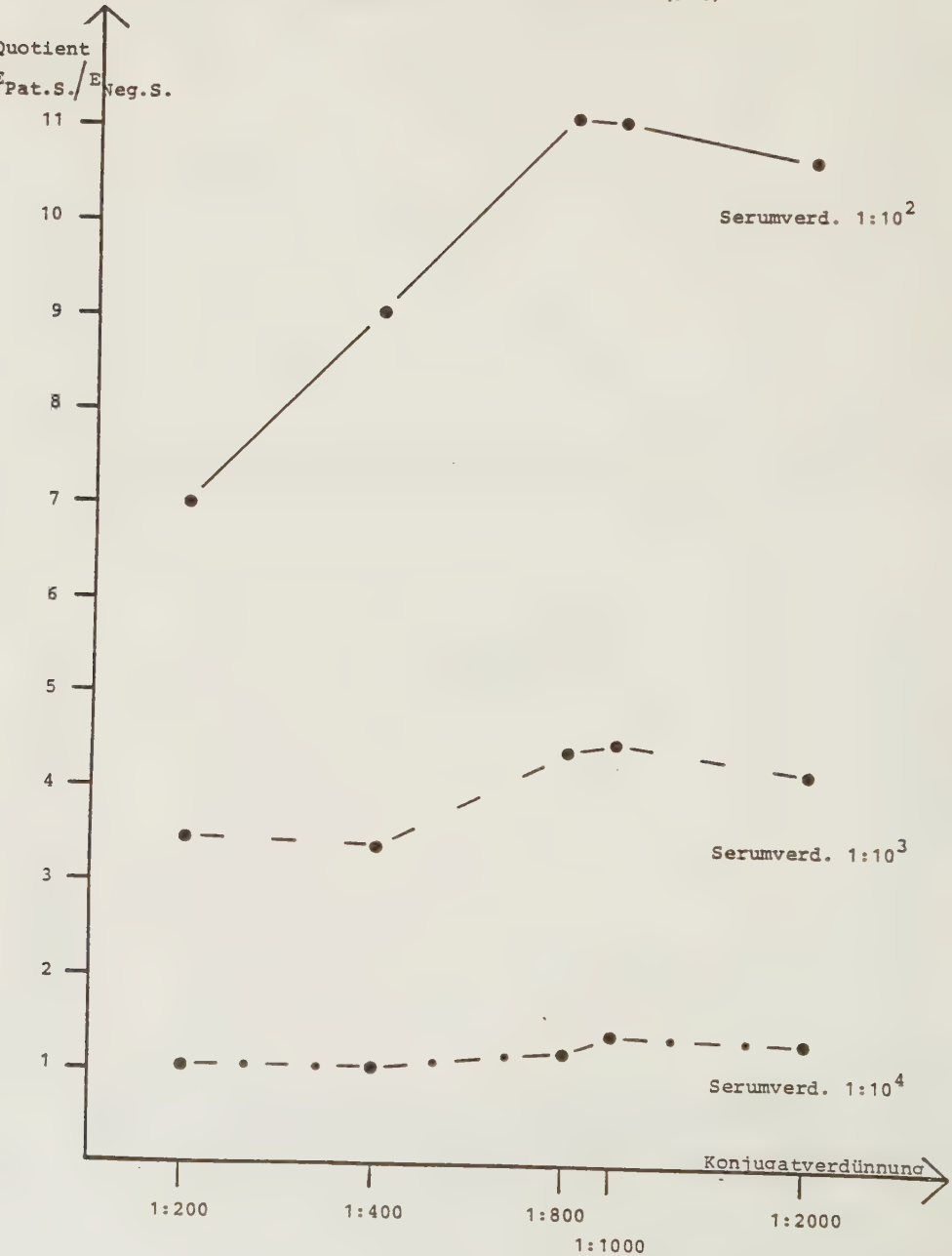


Abb. 6

Anti Human Ig G Peroxidase Konjugat Titration

Patient 29 Serumprobe: 21. 3.80 V. 6034 (K 2)

Quotient
 $E_{\text{Pat.S.}} / E_{\text{Neg.S.}}$

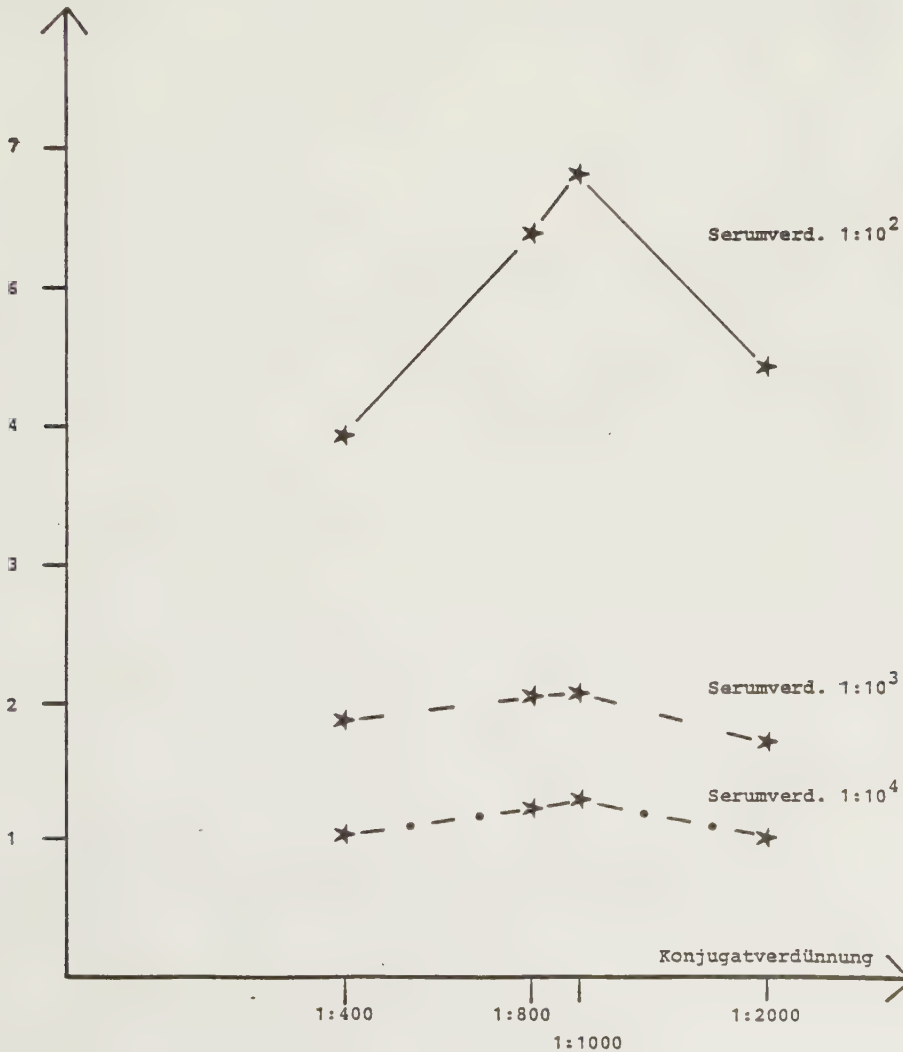


Abb. 7

Anti Human Ig M Peroxidase Konjugat Titration

Patient 10 Serumprobe: 23. 1.80 V. 1189 (K 2)

Quotient

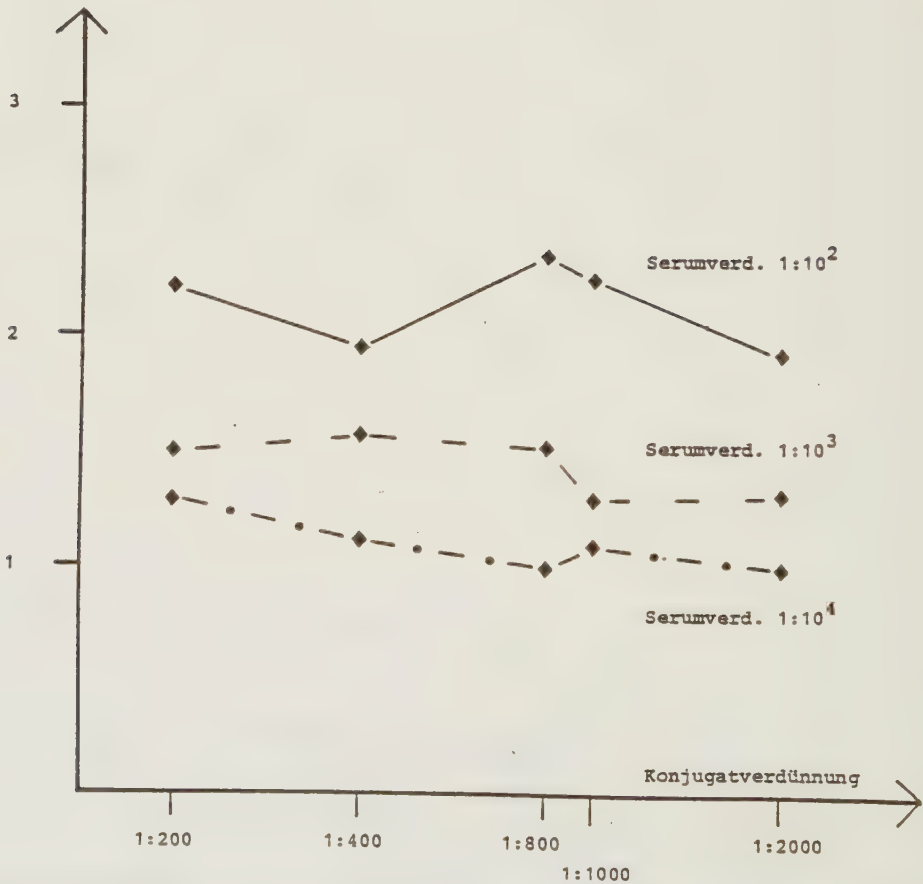
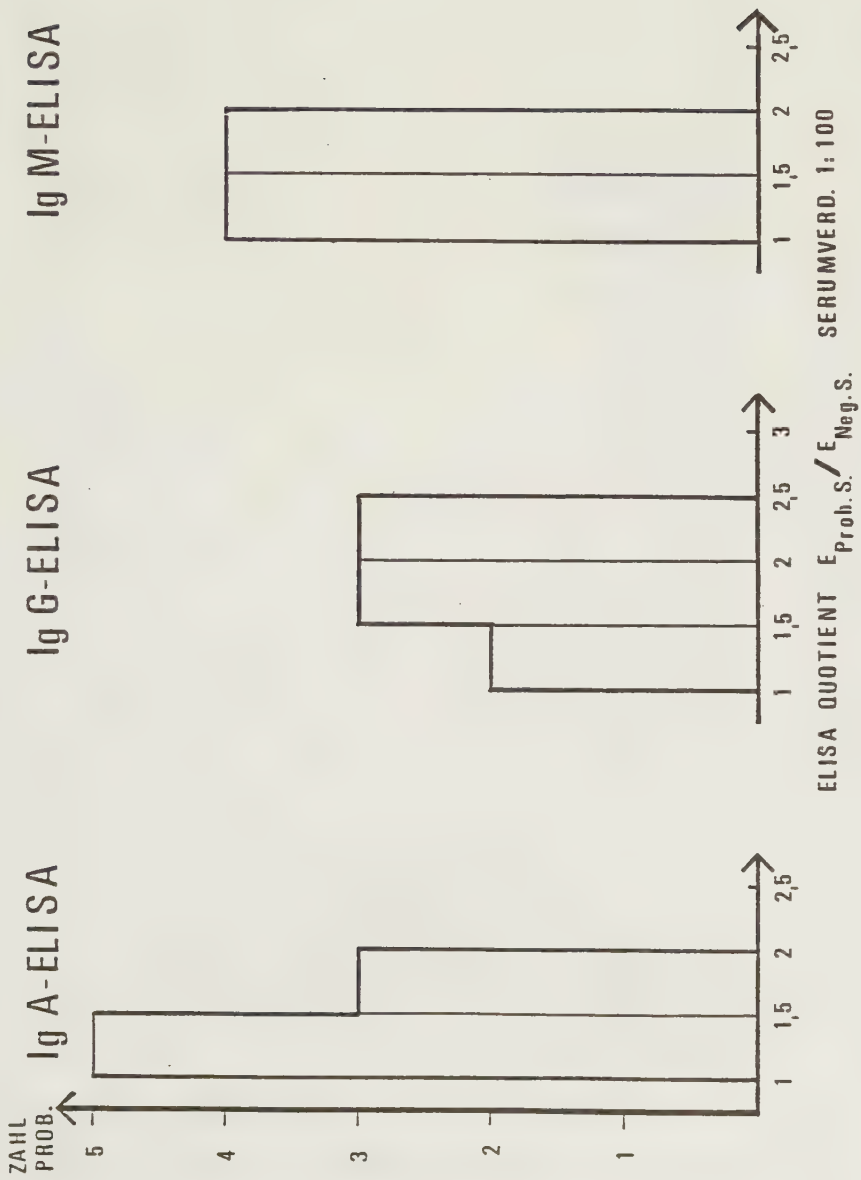
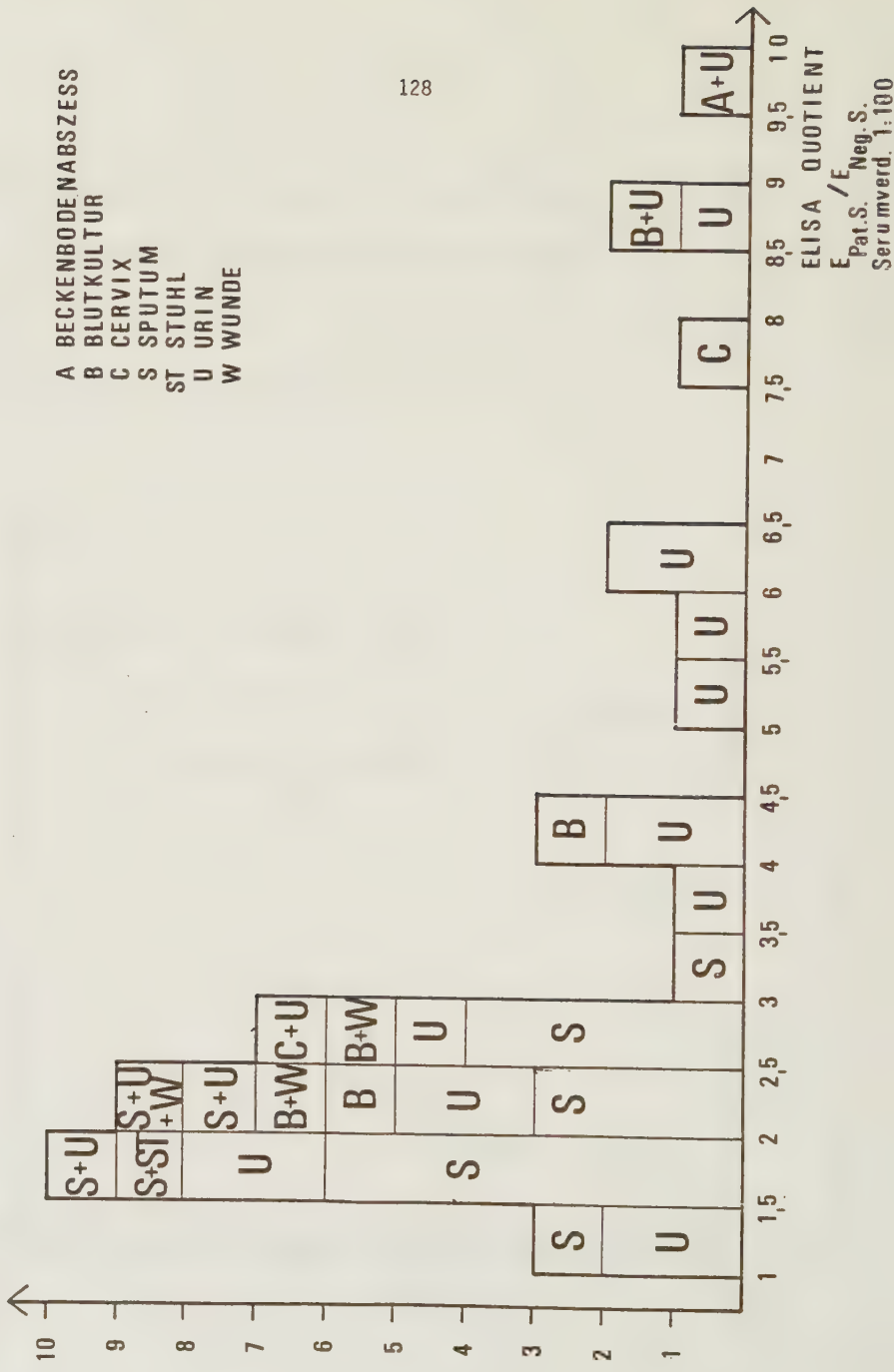
 $\frac{E_{\text{Pat.S.}}}{E_{\text{Neg.S.}}}$ 

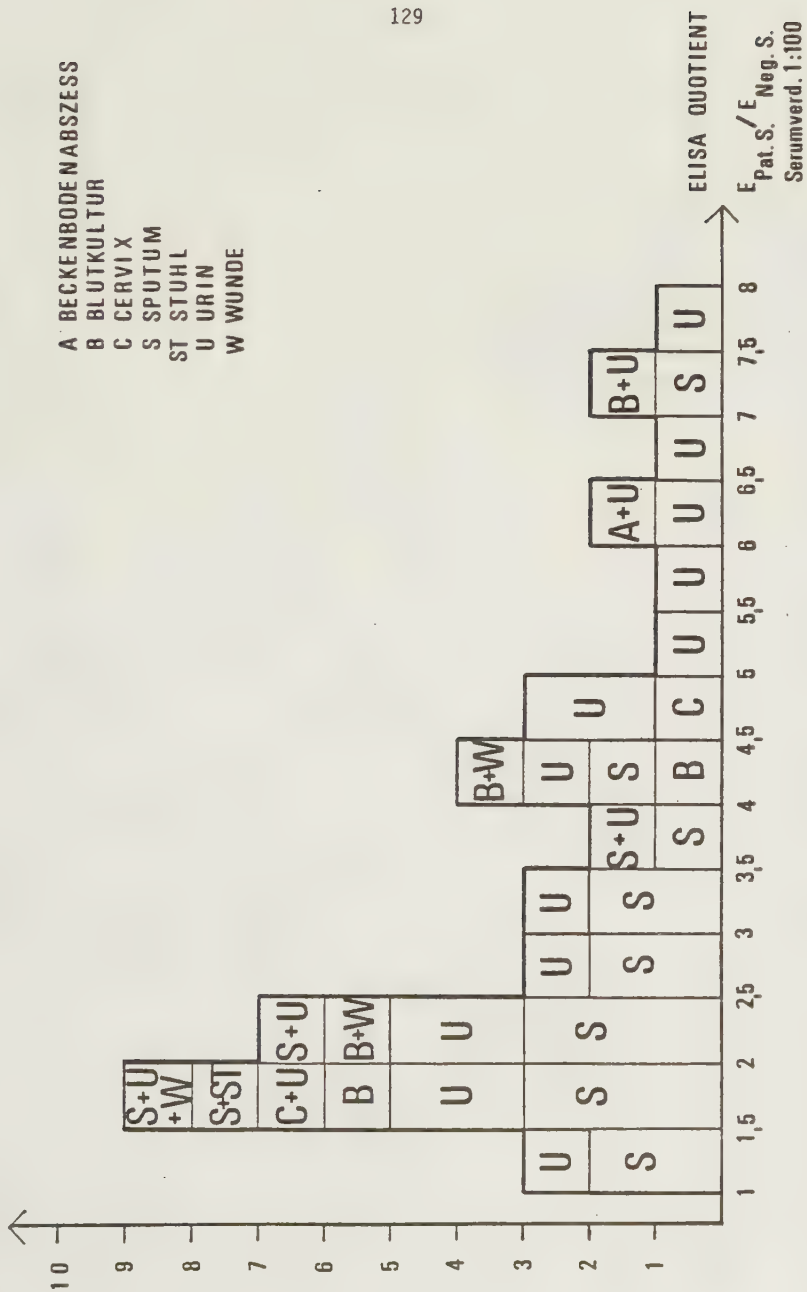
Abb. 8 TITERHÖHE VON GESUNDEN PROBANDEN (n=8) BEI K-MISCH-ANTIGEN IM



ANZAHL
PATIENTEN

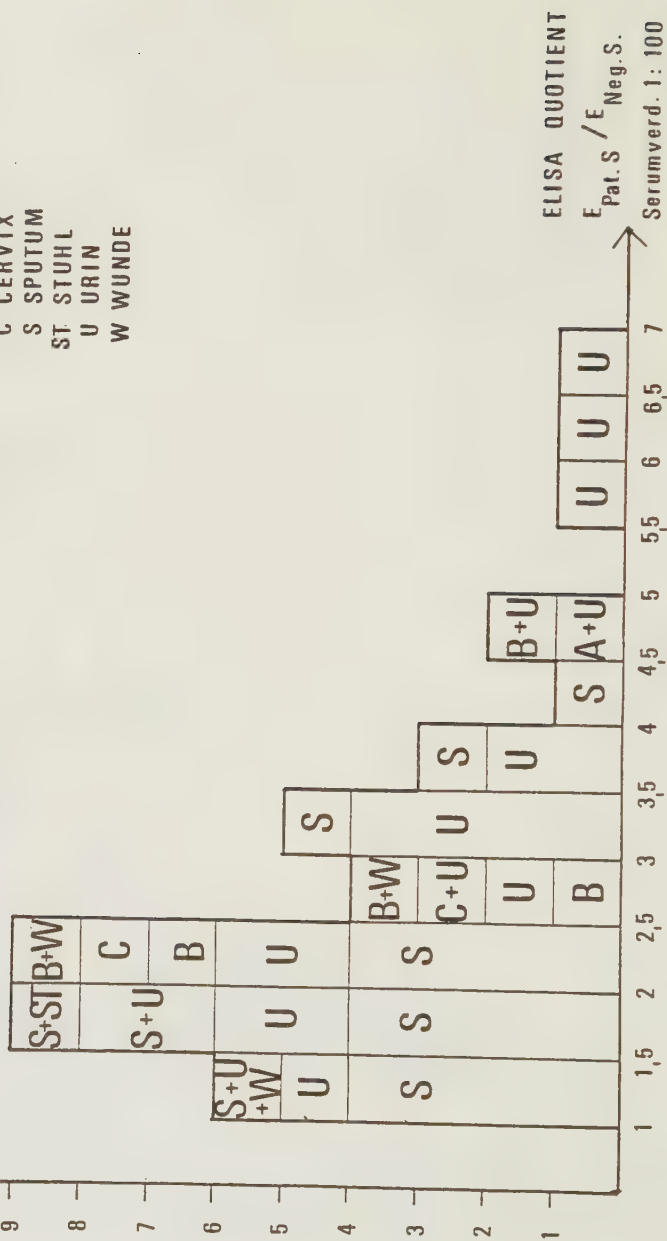


ANZAHL
PATIENTEN



ANZAHL
PATIENTEN

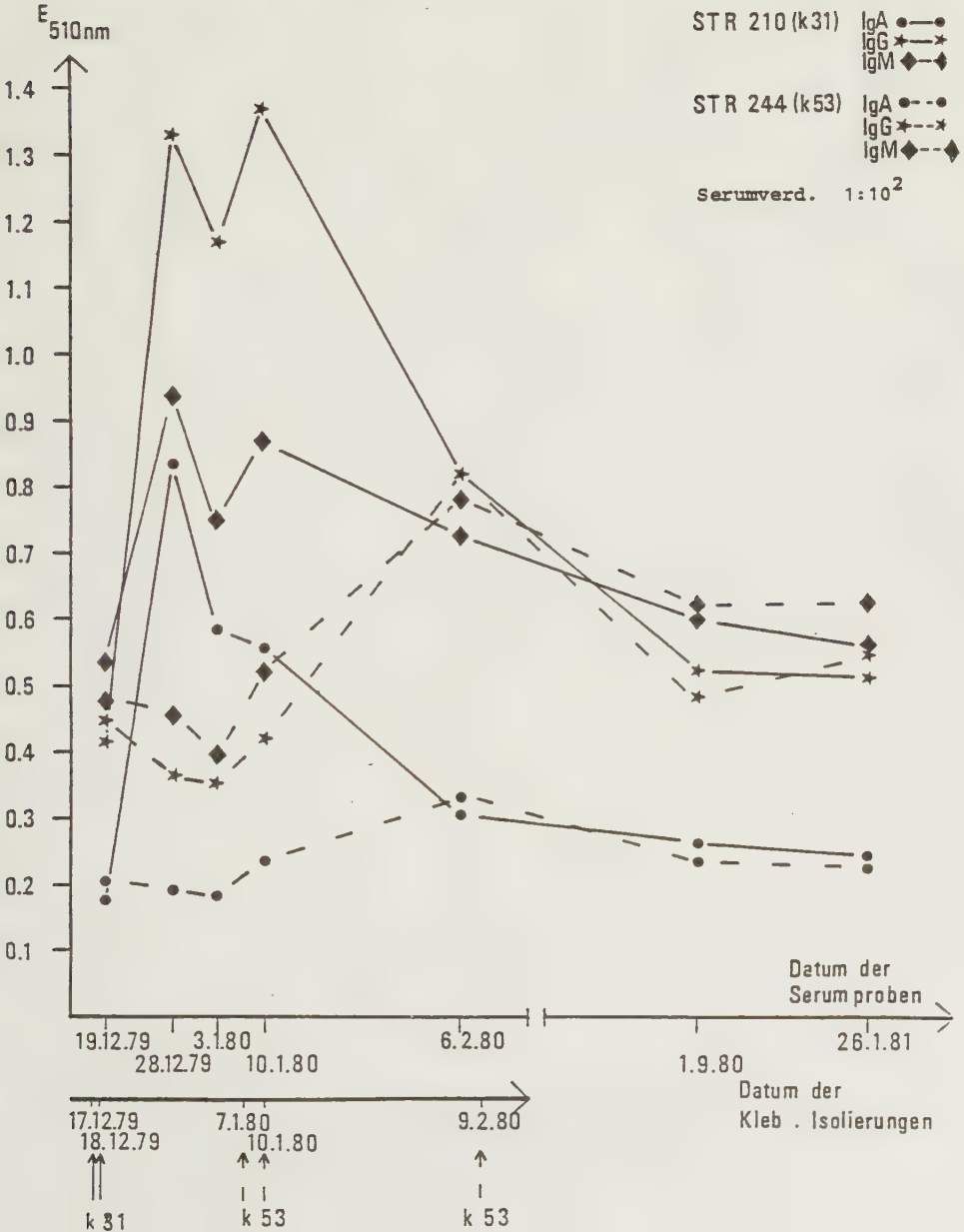
A BECKENBODENABSZESS
 B BLUTKULTUR
 C CERVIX
 S SPUTUM
 ST STUHL
 U URIN
 W WUNDE



ELISA QUOTIENT
 $E_{\text{Pat. S}} / E_{\text{Neg. S.}}$
 Serumverd. 1: 100

Abb. 12 VERLAUF DER SERUM AK - TITER GEGEN K - AG IM ELISA

P A T I E N T 2



Ig G Serumverd.	$1:10^2$	★—★—★
Ig A Serumverd.	$1:10^2$	●—●—●
Ig M Serumverd.	$1:10^2$	◆—◆—◆

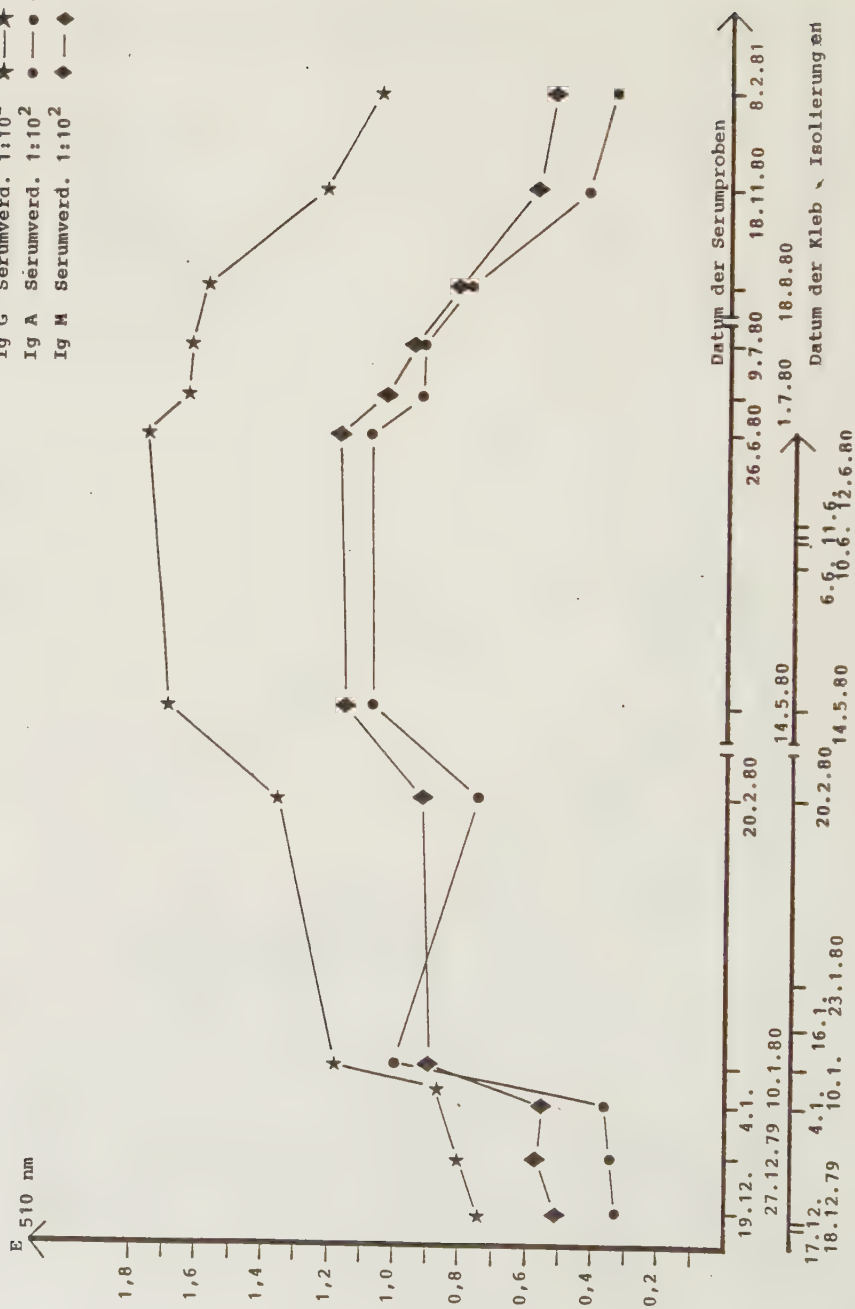
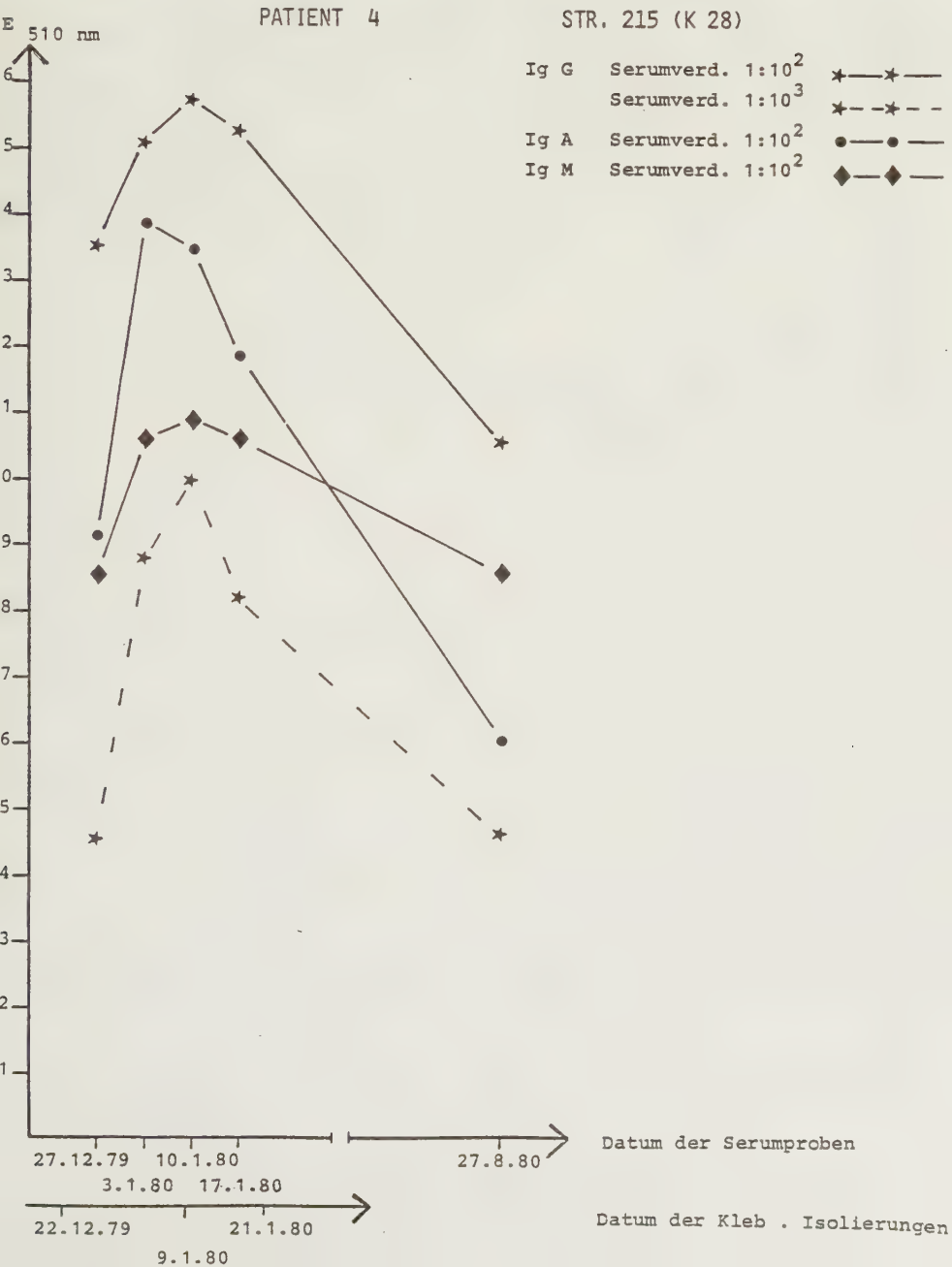


Abb. 14 VERLAUF DER SERUM AK - TITER GEGEN K - AG IM ELISA



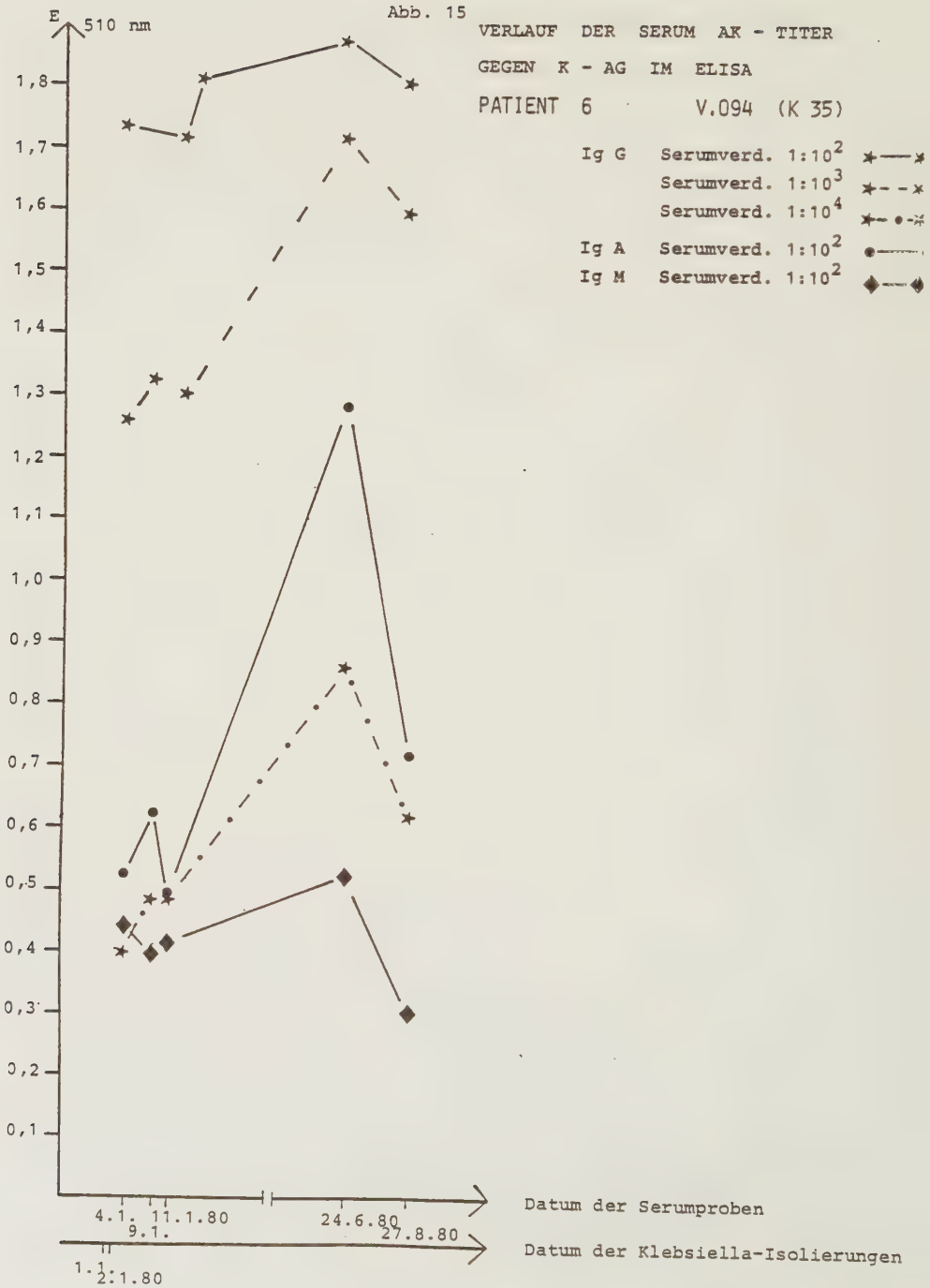


Abb. 16 VERLAUF DER SERUM AK - TITER GEGEN K - AG IM ELISA

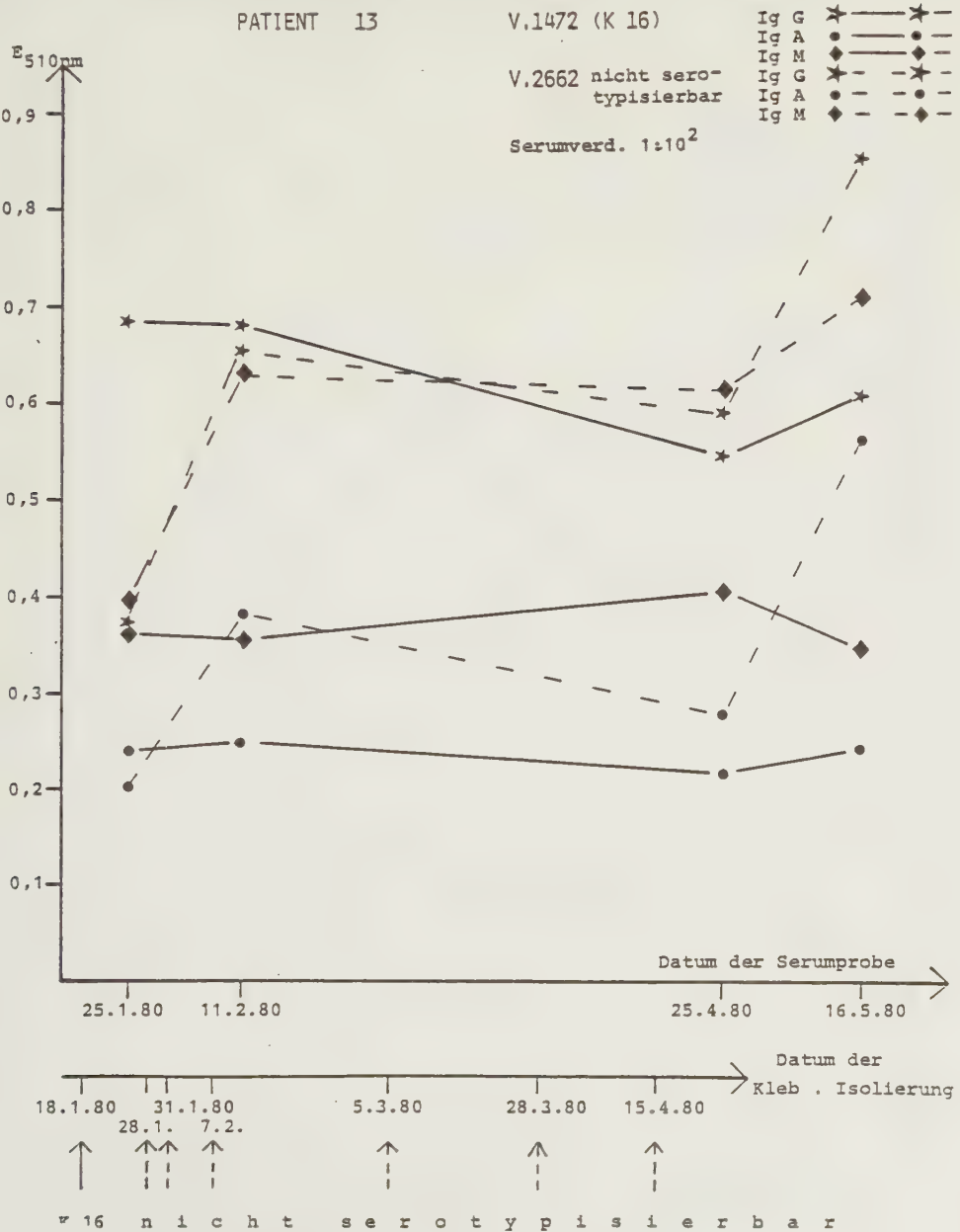


Abb. 17 VERLAUF DER SERUM AK - TITER GEGEN K - AG IM ELISA

PATIENT 17

STR.339 (K 28)

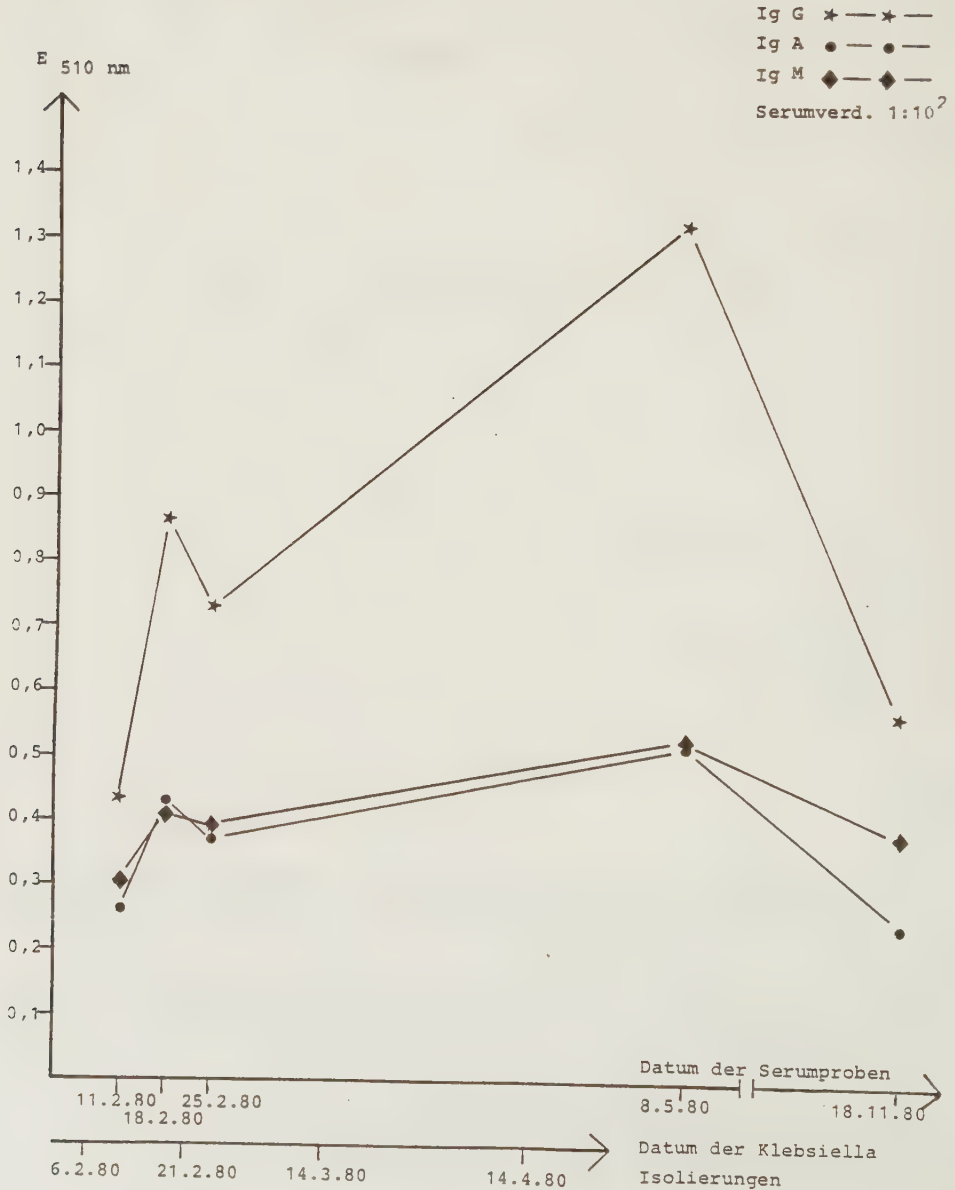


Abb. 18

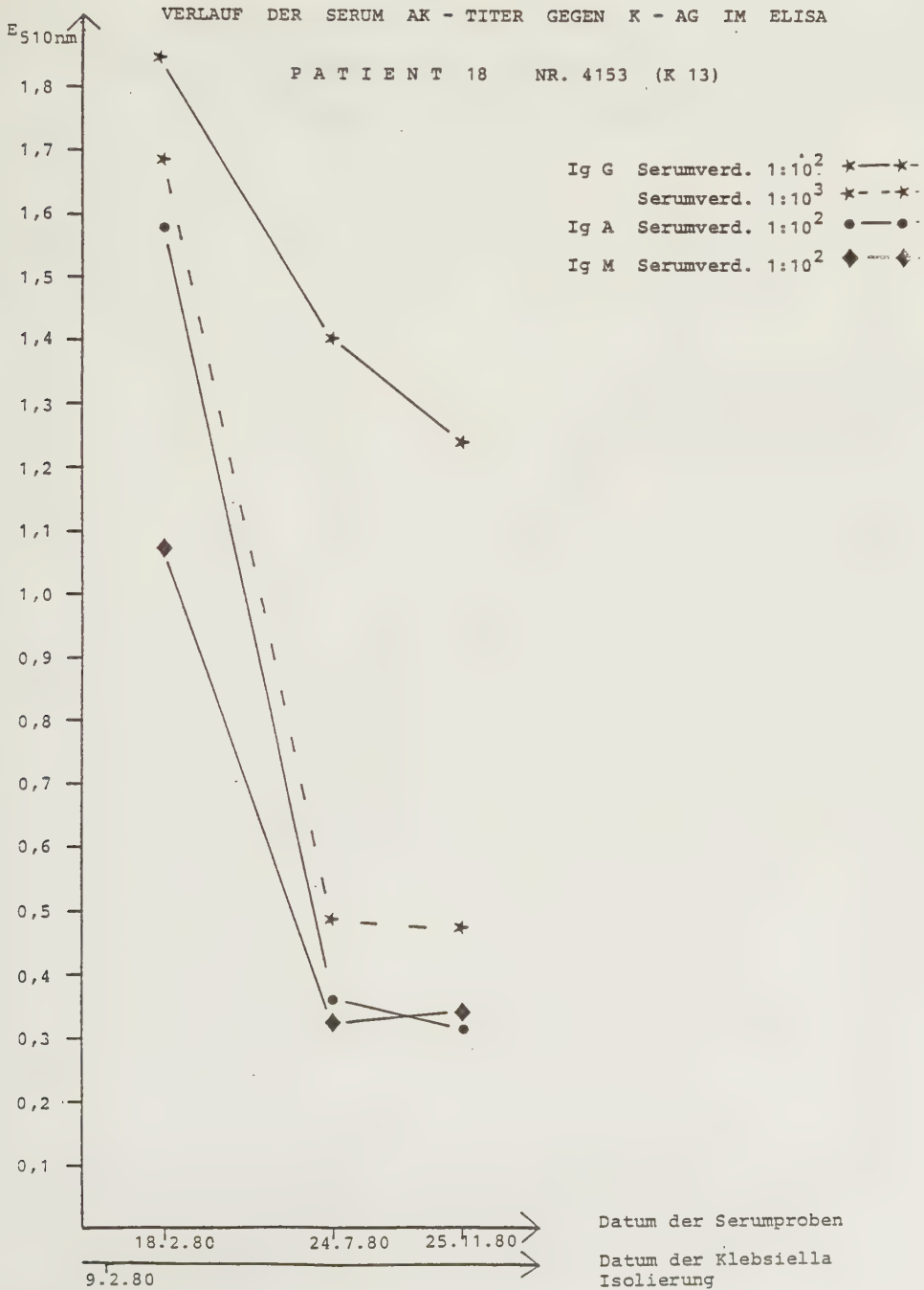


Abb. 19

VERLAUF DER SERUM AK - TITER GEGEN K - AG IM ELISA

PATIENT 29

V. 6034 (K 2)

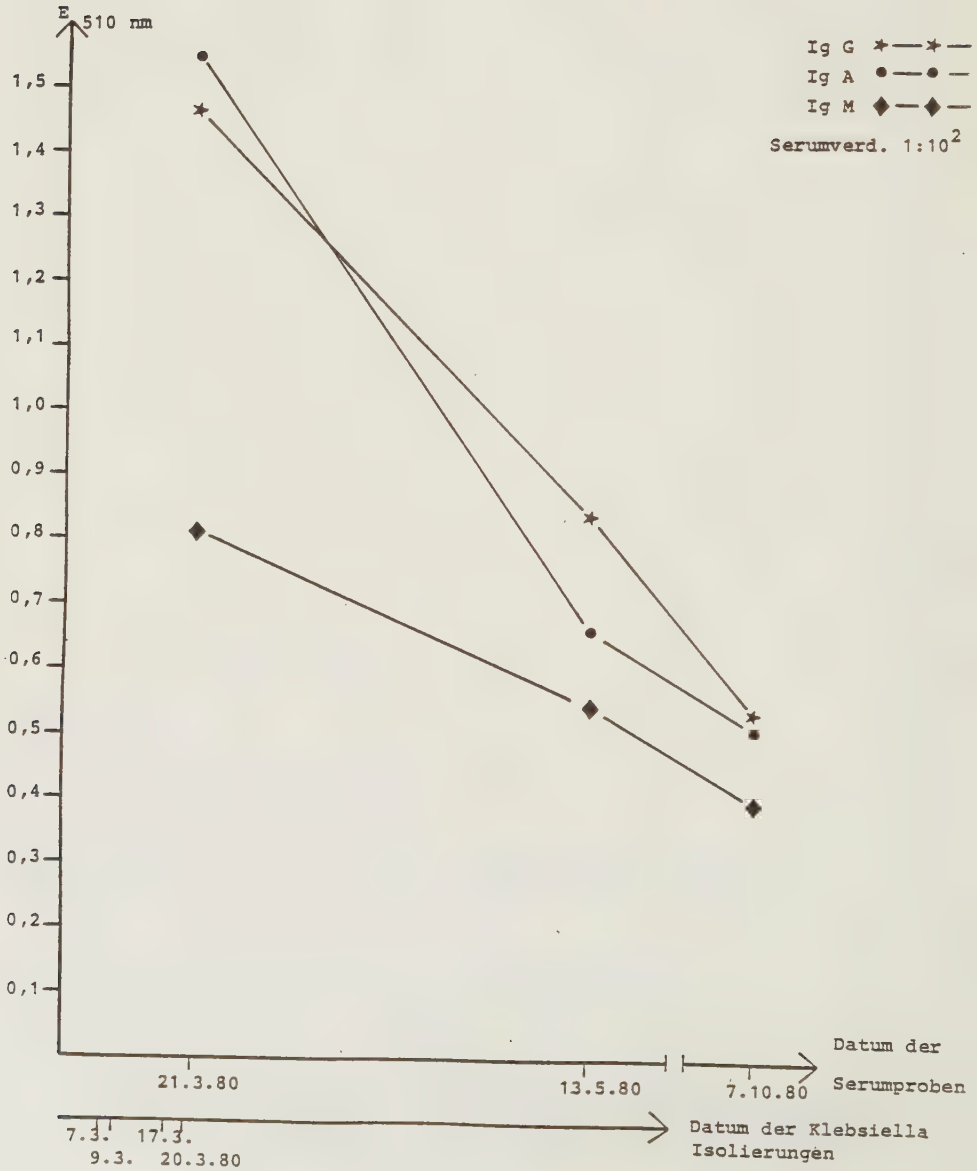


Abb. 20 VERLAUF DER SERUM AK - TITER GEGEN K - AG IM ELISA

PATIENT 36

STR. 452 (K 74)

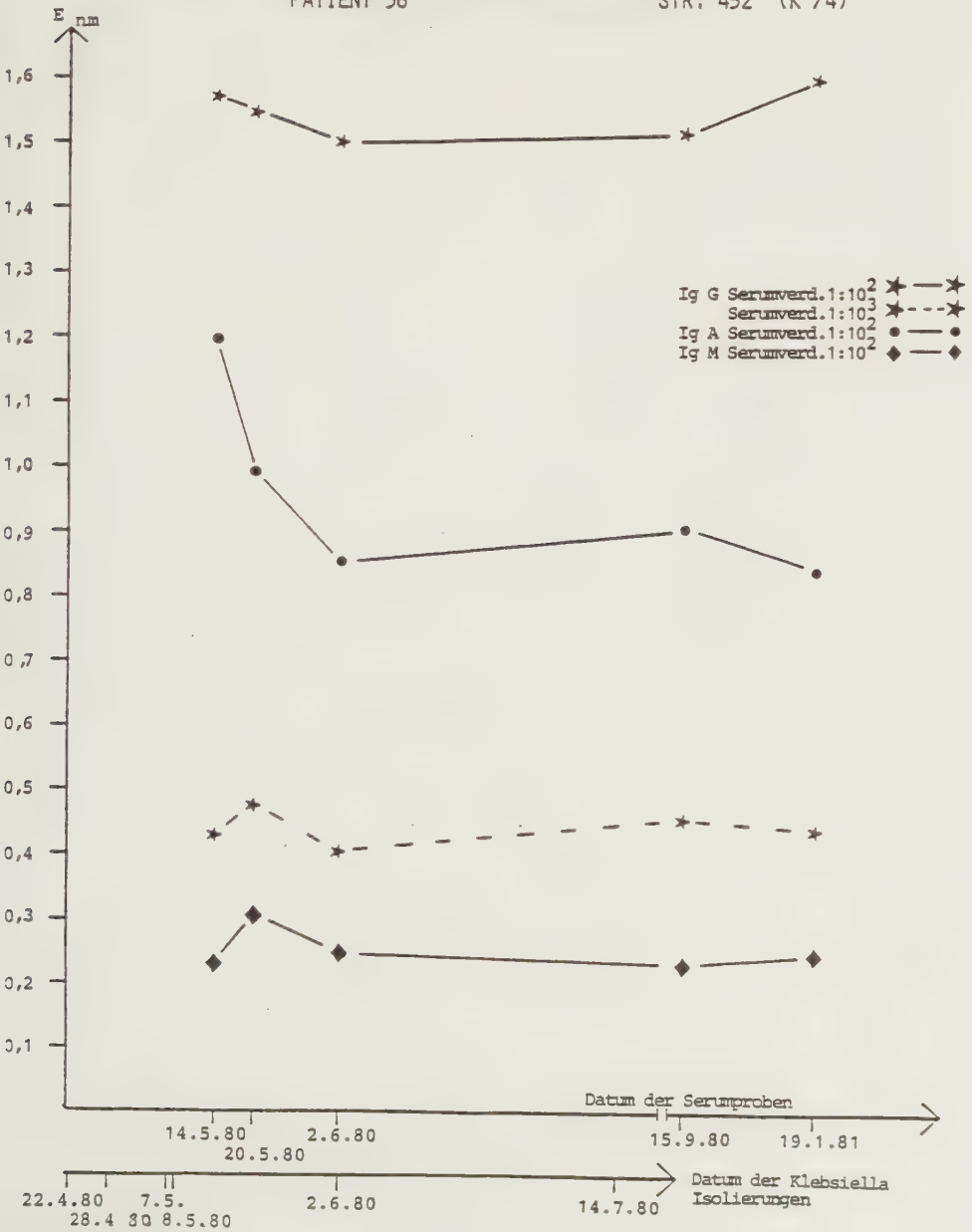
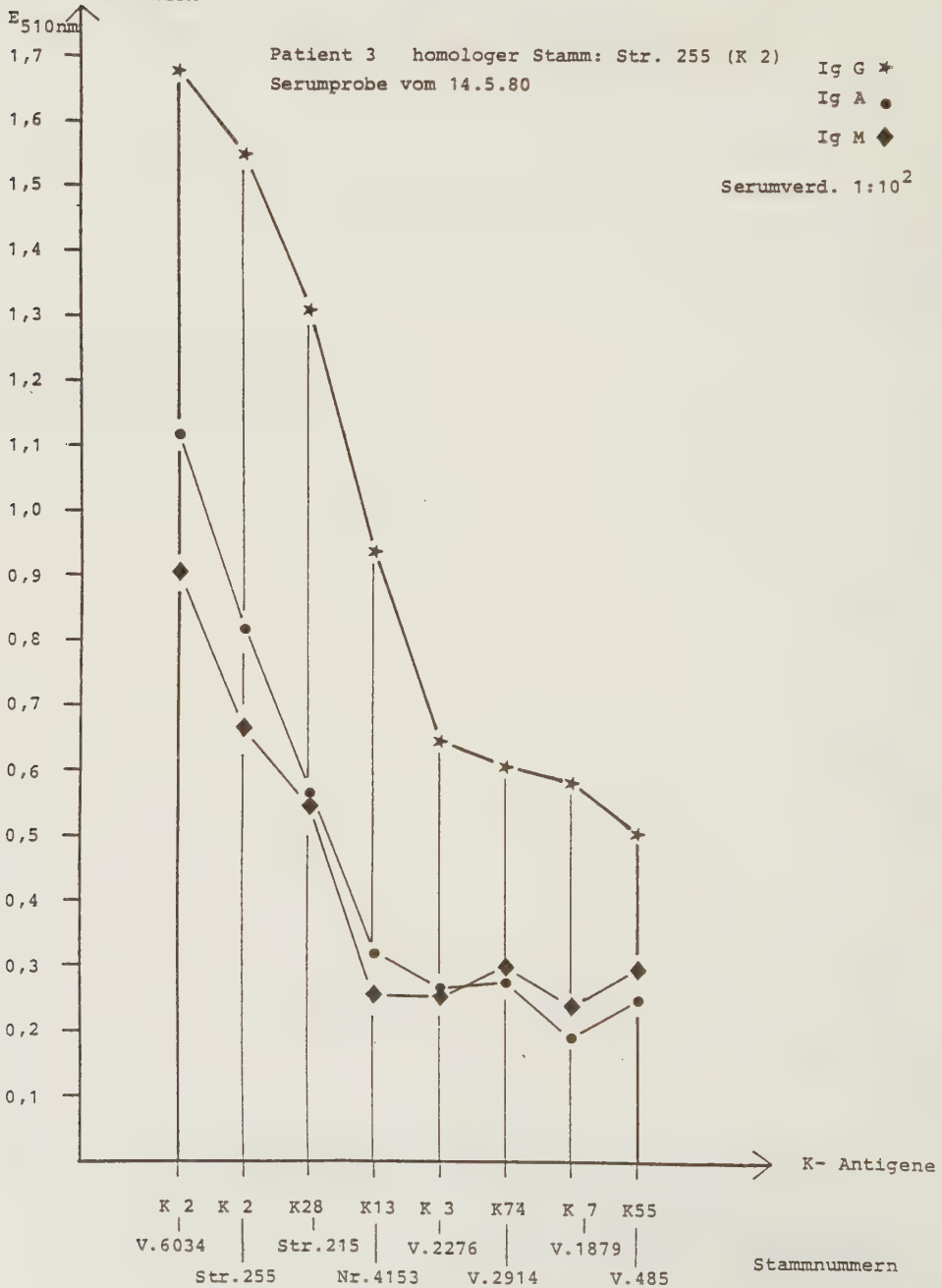


Abb. 21 Kreuzreaktionen von Patientenserum mit heterologen K - Antigenen im ELISA



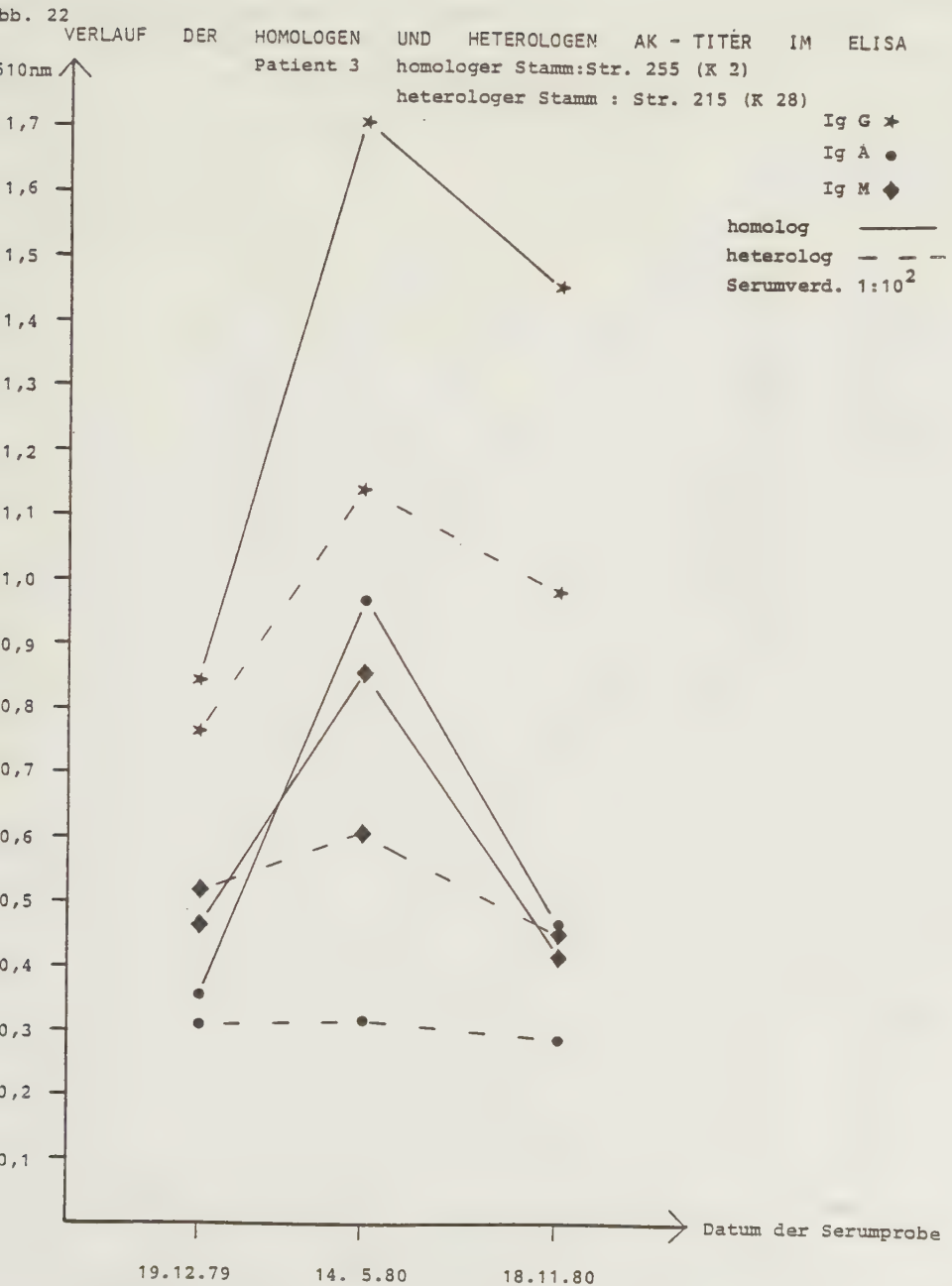


Abb. 23

Kreuzreaktionen von Patientenserum mit heterologen K - Antigenen
im ELISA

Patient 4 homologer Stamm: Str. 215 (K 28)
Serumprobe vom 3.1.80

Ig G ★

Ig A ●

Ig M ◆

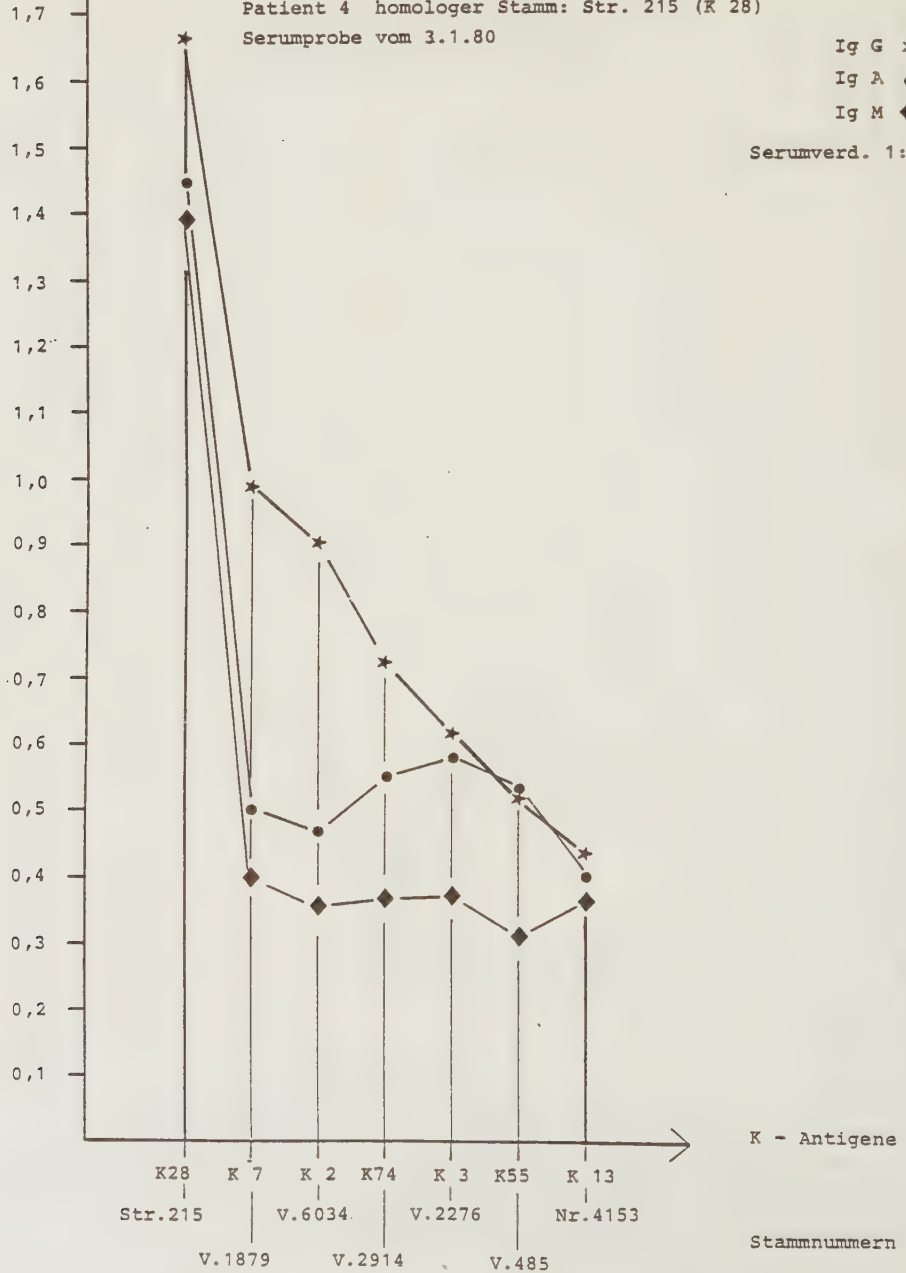
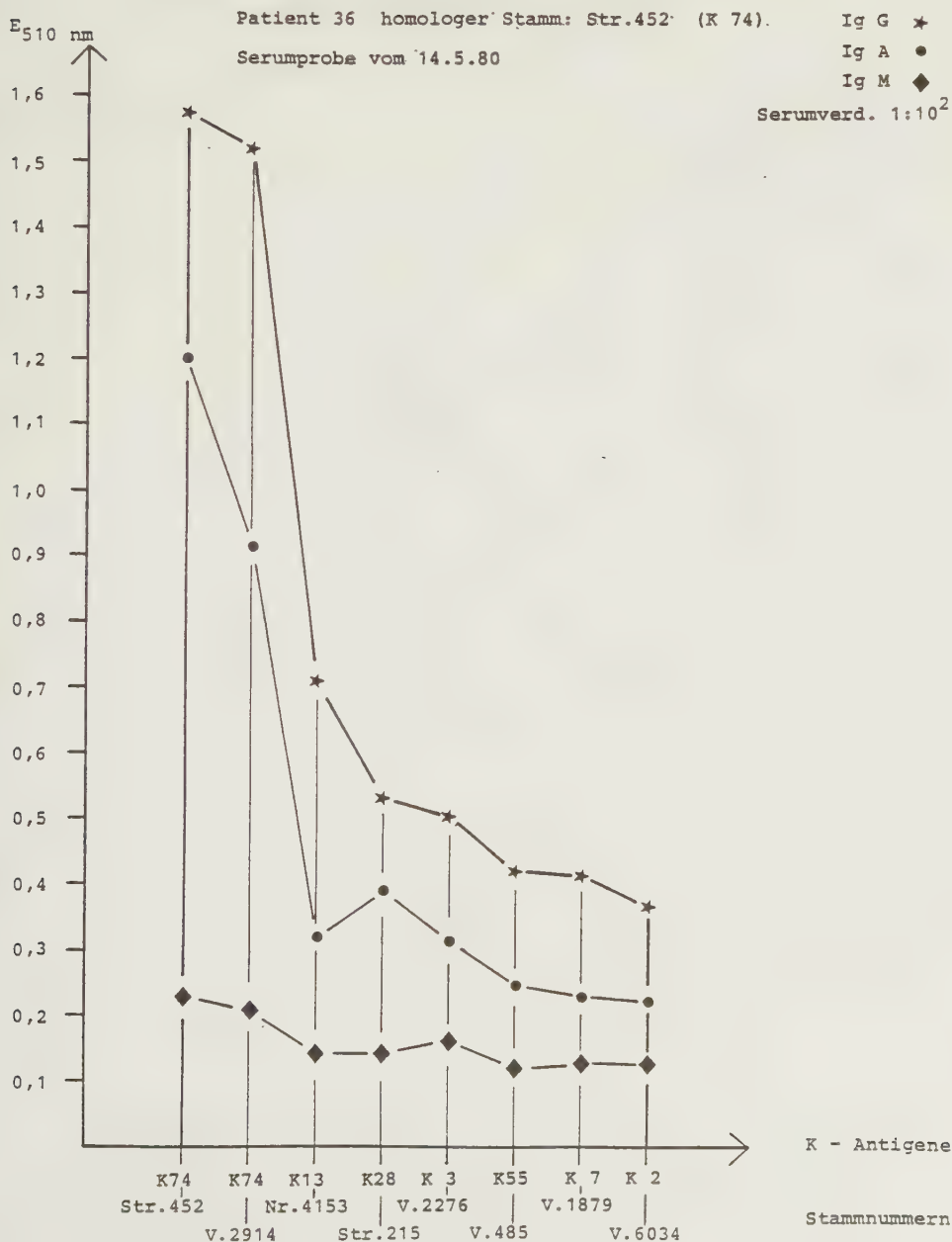
Serumverd. $1:10^2$ 

Abb. 24 Kreuzreaktionen von Patientenserum mit heterologen K - Antigenen im ELISA



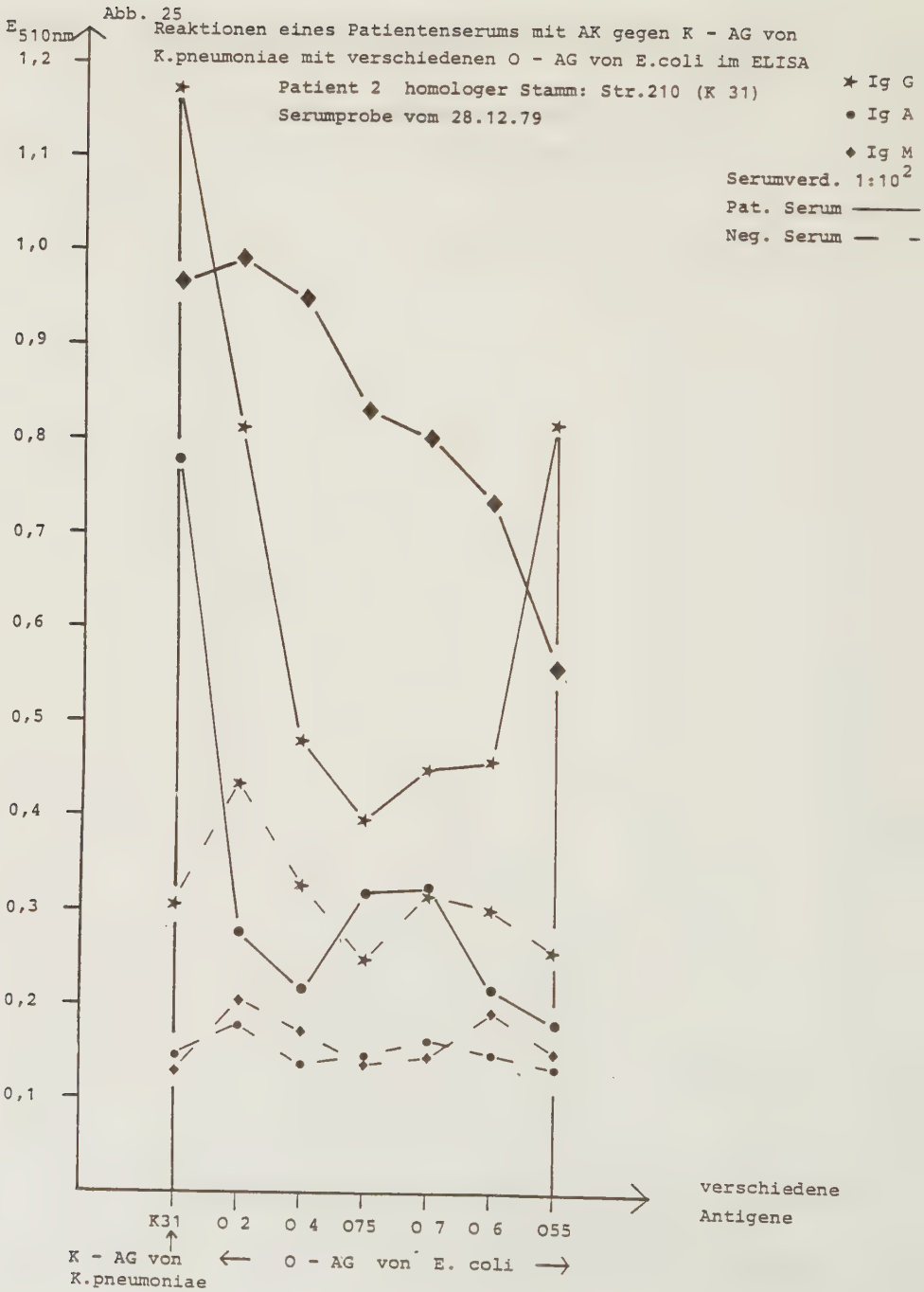


Abb. 26

Verlauf homologer und heterologer AK - Titer im ELISA
 Patient 2 homologer Stamm: Str. 210 (K 31)

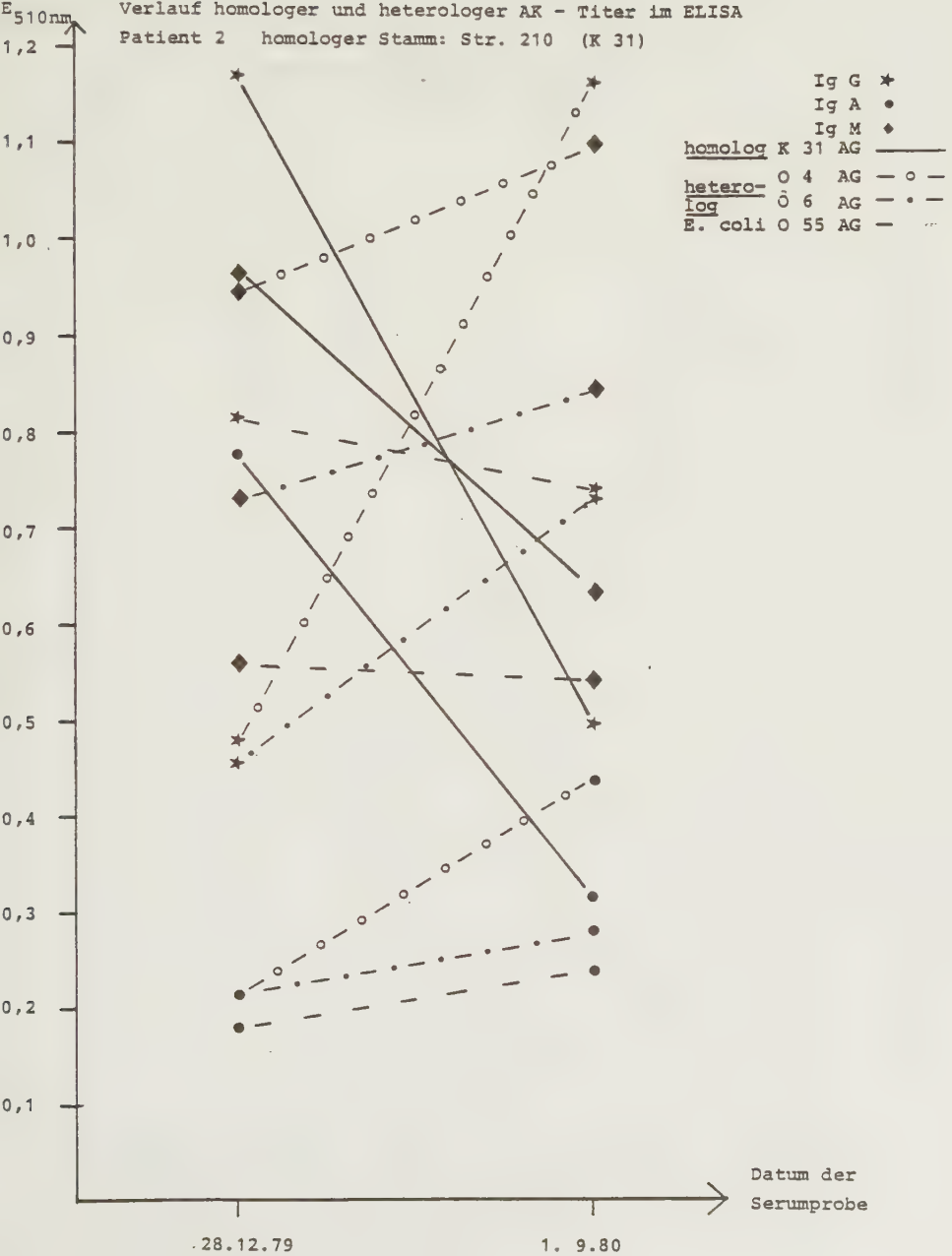


Abb. 27

Reaktionen eines Patientenserums mit AK gegen K - AG von
K.pneumoniae mit verschiedenen O - AG von *E.coli* im ELISA

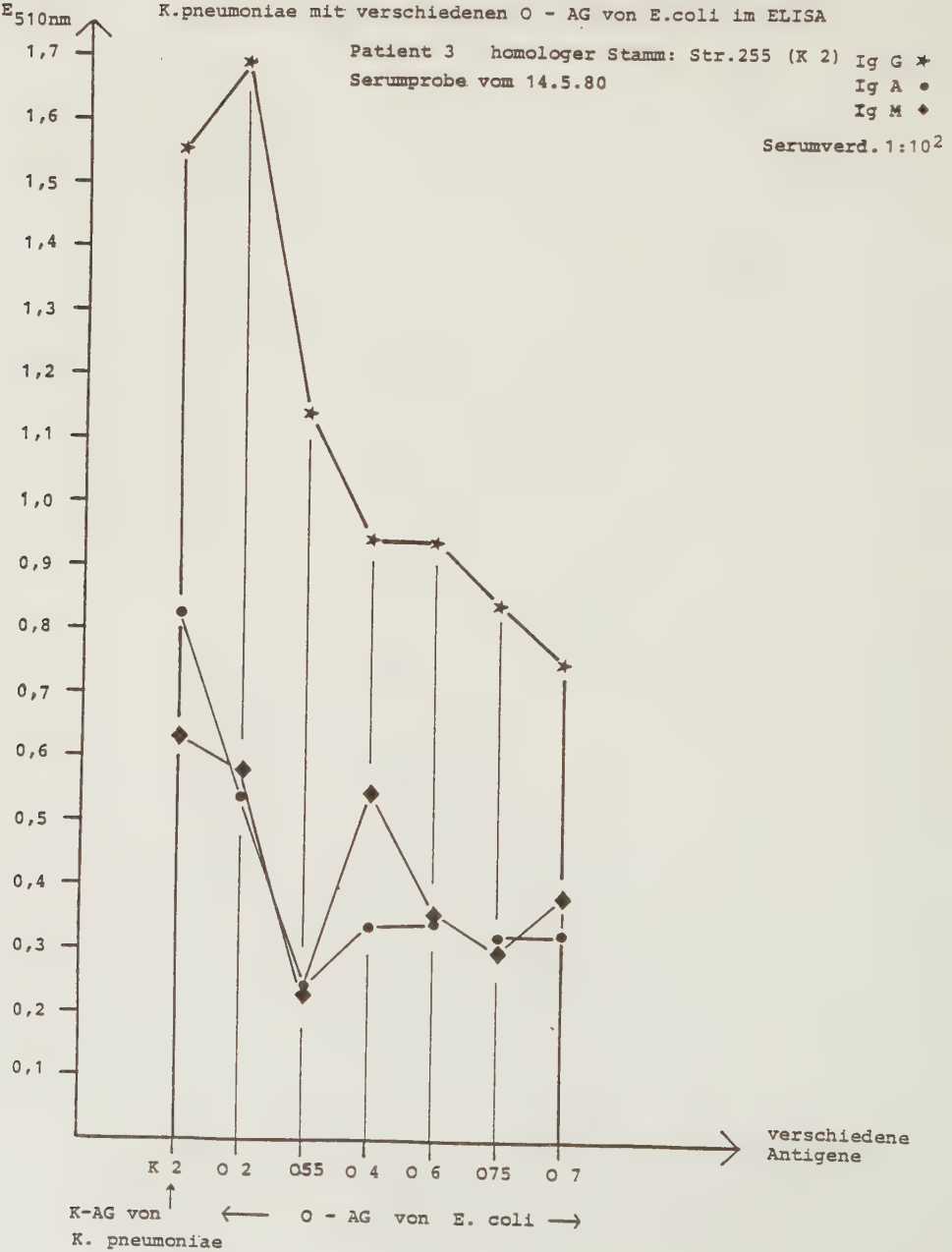


Abb. 28 Kreuzreaktionen eines Patientenserums mit AK gegen K - AG von *K.pneumoniae* mit verschiedenen O - AG von *E.coli* im ELISA Ig G ★

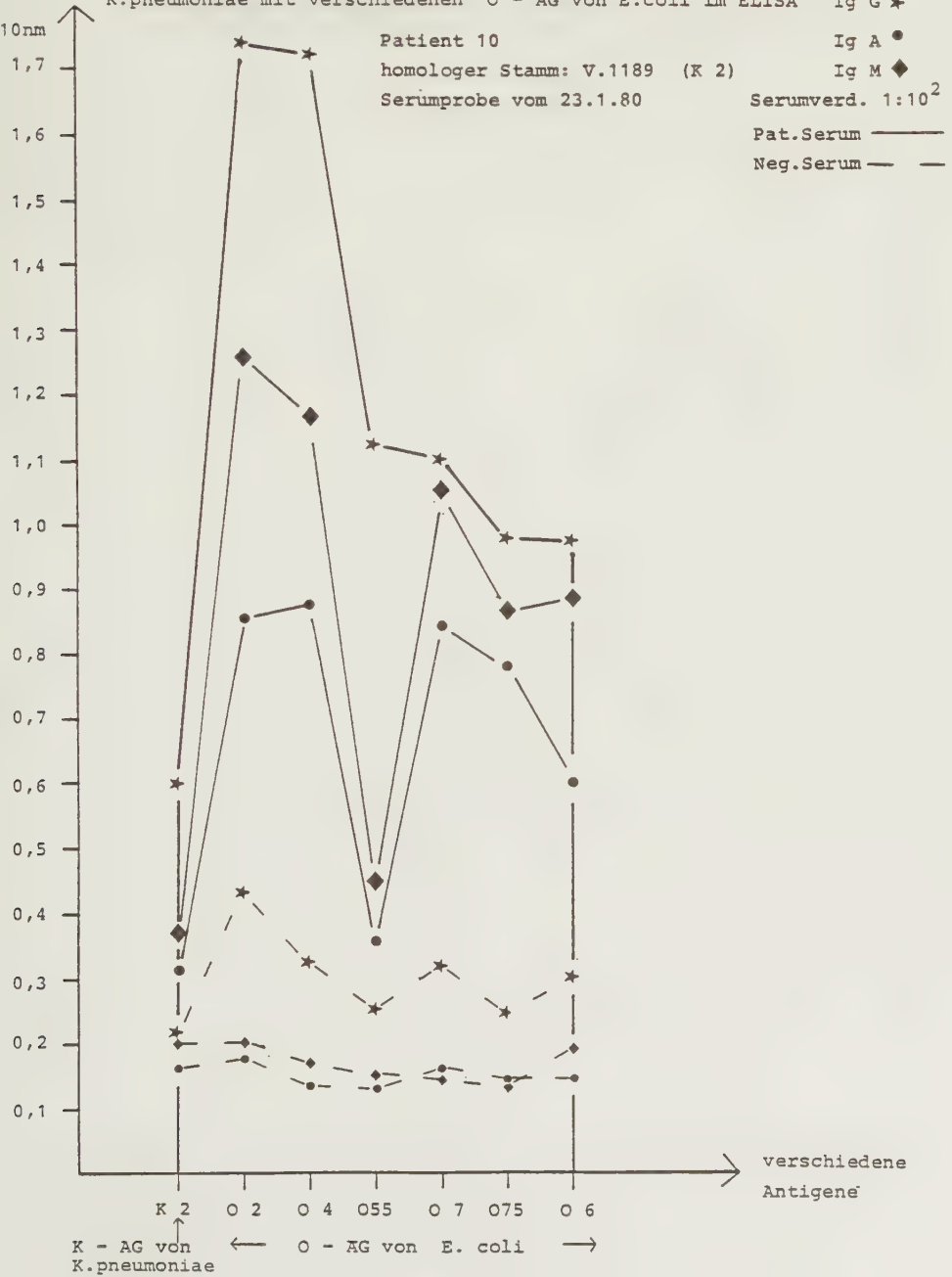


Abb. 29

Reaktionen eines Patientenserums mit AK gegen K - AG
von *K. pneumoniae* mit verschiedenen O - AG von
E. coli im ELISA

Patient 26 homologer Stamm: V/3999 (K 9)

Serumprobe vom 18.3.80

★ Ig G

● Ig A

◆ Ig M

Serumverd. $1:10^2$

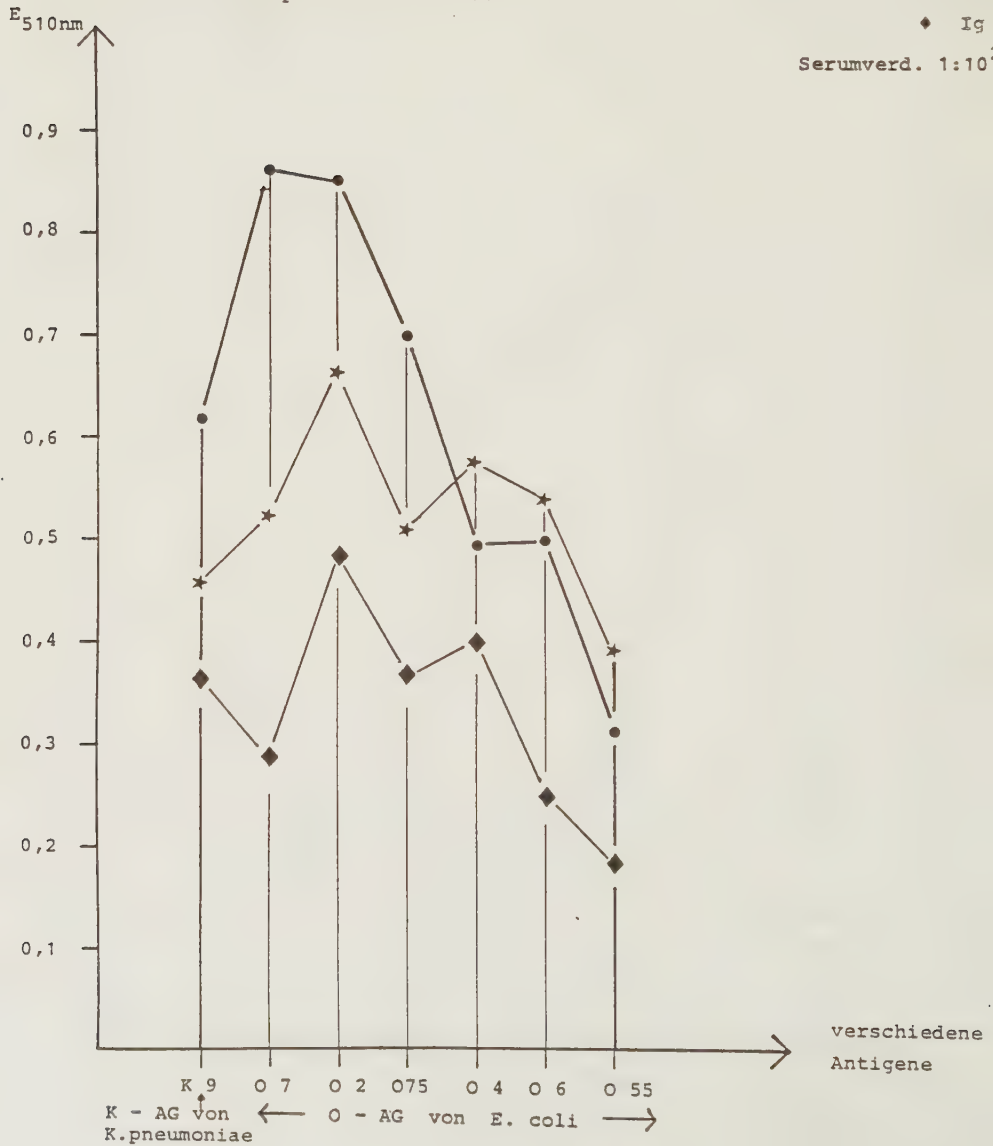


Abb. 30

Reaktionen eines Patientenserums mit AK gegen K - AG von
K.pneumoniae mit verschiedenen O - AG von E.coli im ELISA

Patient 30 homologer Stamm: V.8060 (K 20)
Serumprobe vom 10.4.80

Ig G ★

Ig A ●

Ig M ◆

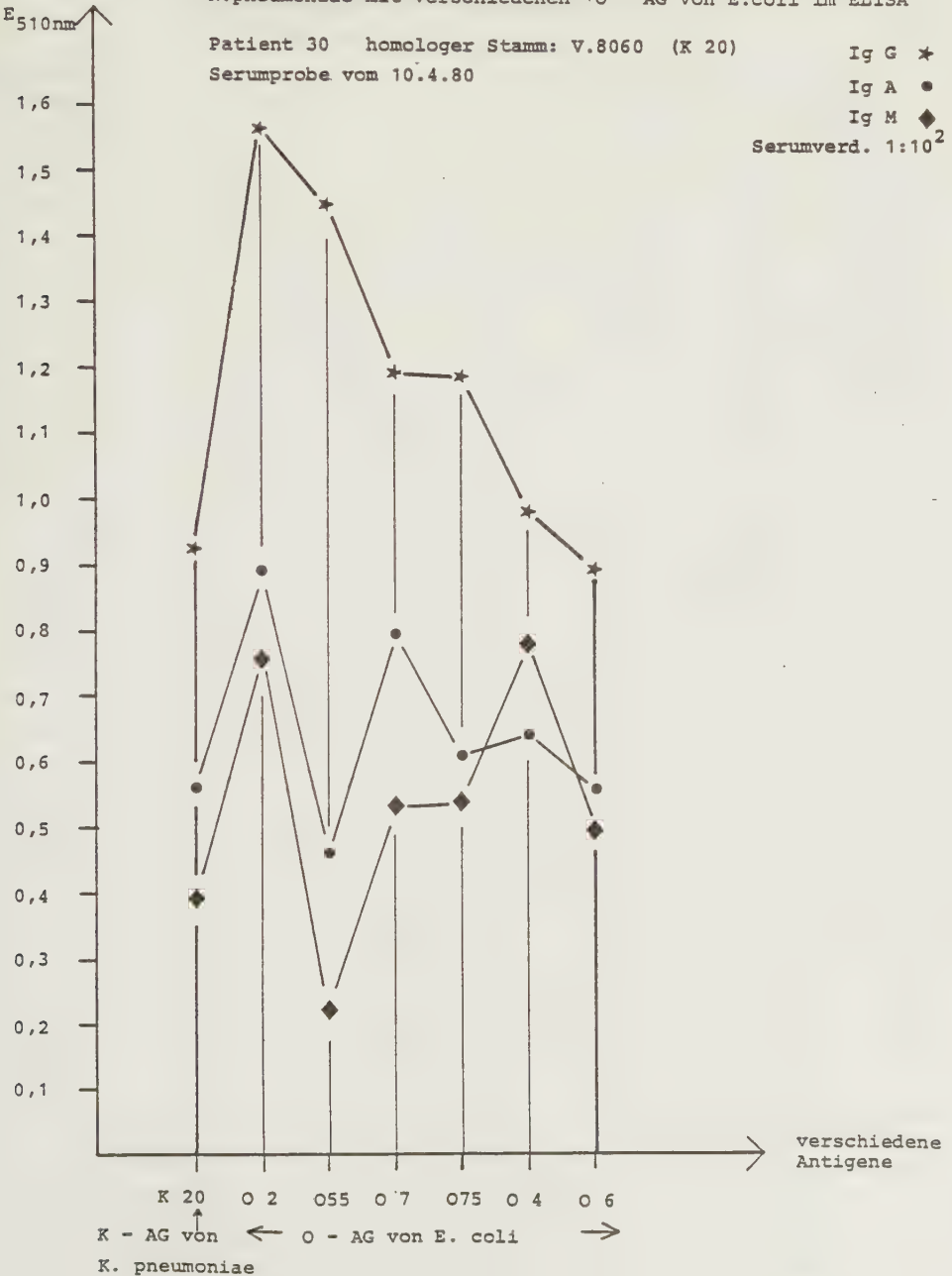
Serumverd. 1:10²

Abb. 31 Reaktionen eines Patientenserums mit AK gegen K - AG von
 E_{510nm} K. pneumoniae mit verschiedenen O - AG von E. coli im ELISA

Patient 36 homologer Stamm: Str.452 (K 74)
 Serumprobe vom 14.5.80

★ Ig G
 • Ig A
 ♦ Ig M

Serumverd. $1:10^2$



Abb. 32

Reaktionen eines Patientenserums mit AK gegen K - AG von
K.pneumoniae mit verschiedenen O - AG von E.coli im ELISA

Patient 41

homologer Stamm: V/8374 (K 45)

Serumprobe vom 1.8.80

★ Ig G

● Ig A

◆ Ig M

Serumverd. $1:10^2$

Pat.Serum ———

Neg.Serum ———

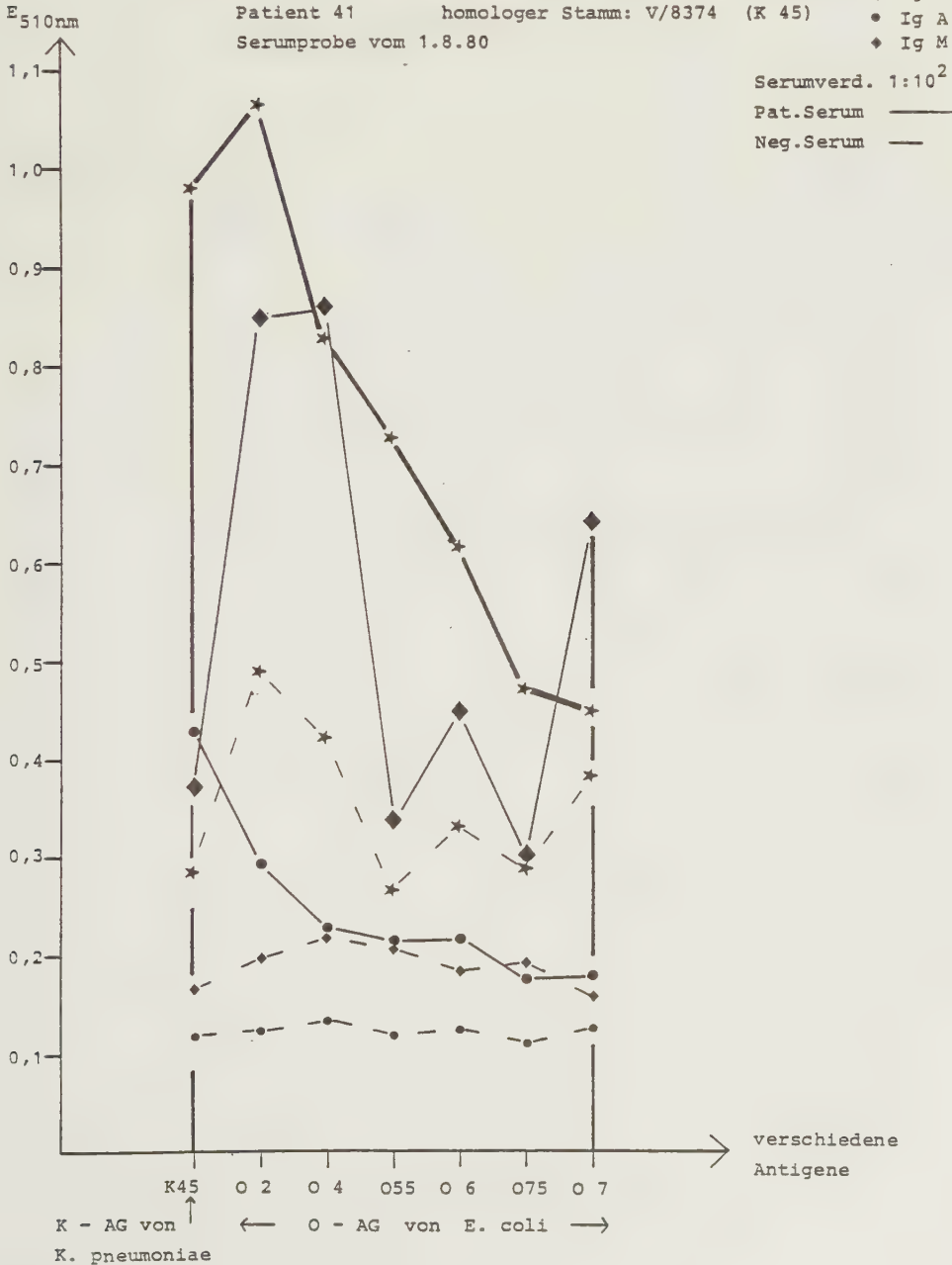
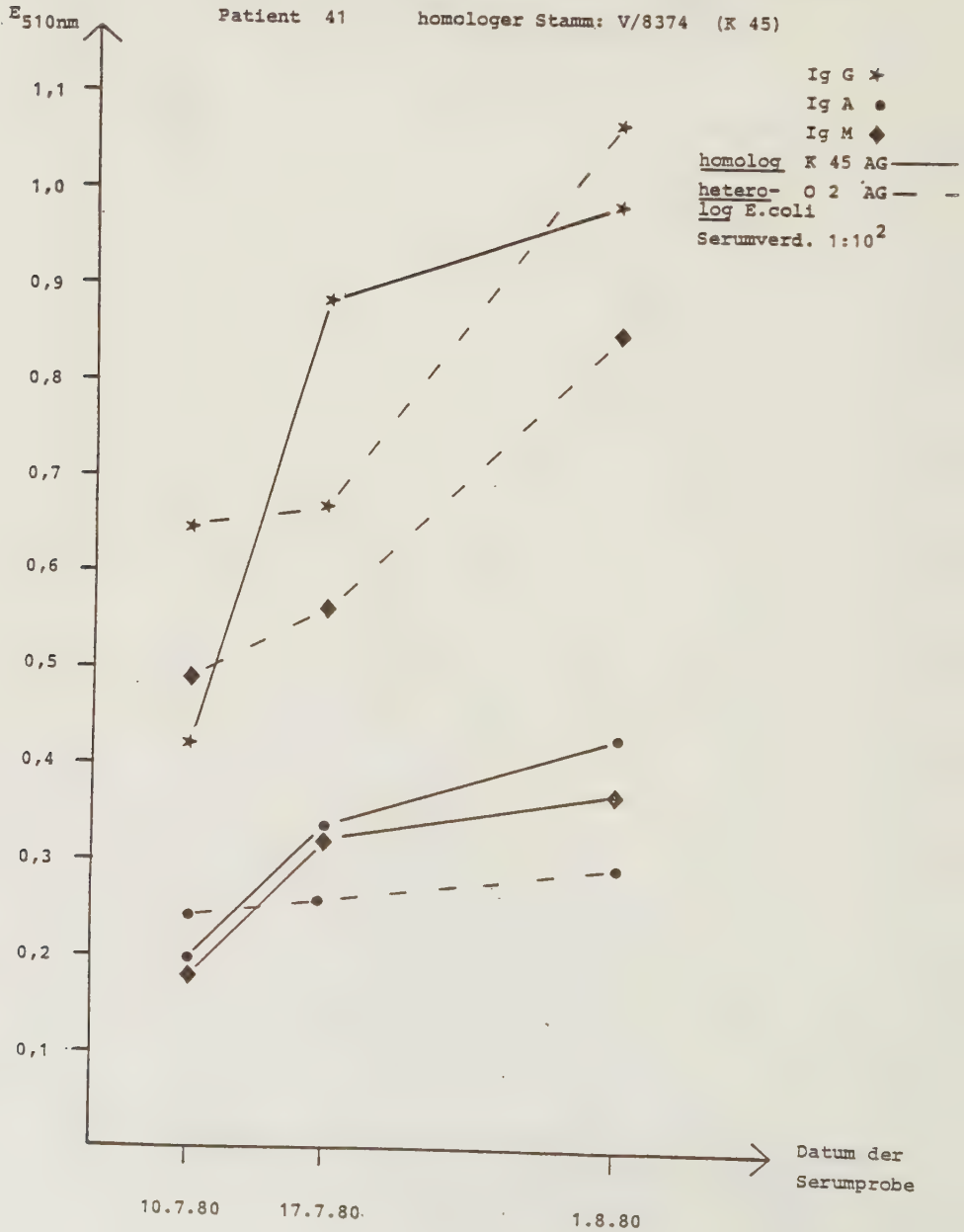


Abb. 33

VERLAUF HOMOLOGER UND HETEROLOGER AK - TITER IM ELISA

Patient 41

homologer Stamm: V/8374 (K 45)

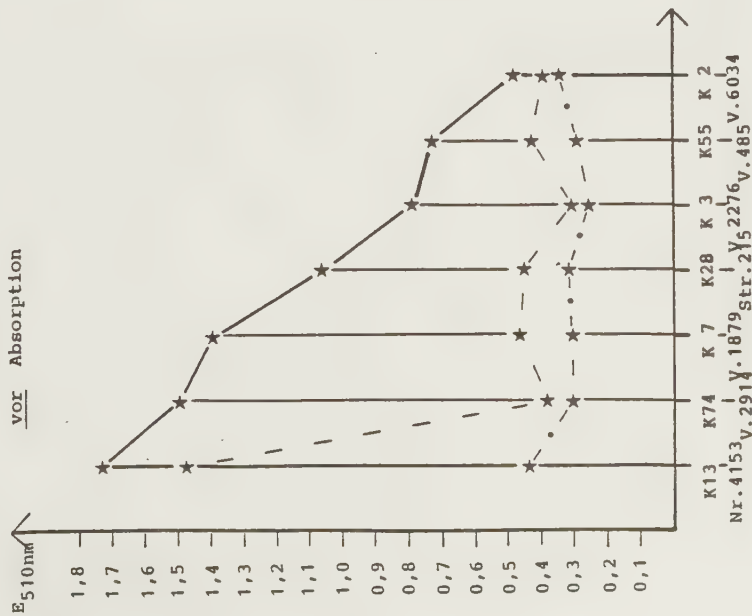


EINFLUSS DER ABSORPTION EINES PATIENTENSERUMS (PATIENT 18) AN K. PNEUMONIAE K 3
AUF KREUZREAKTIONEN INNERHALB DER K - ANTIGENE IM ELISA

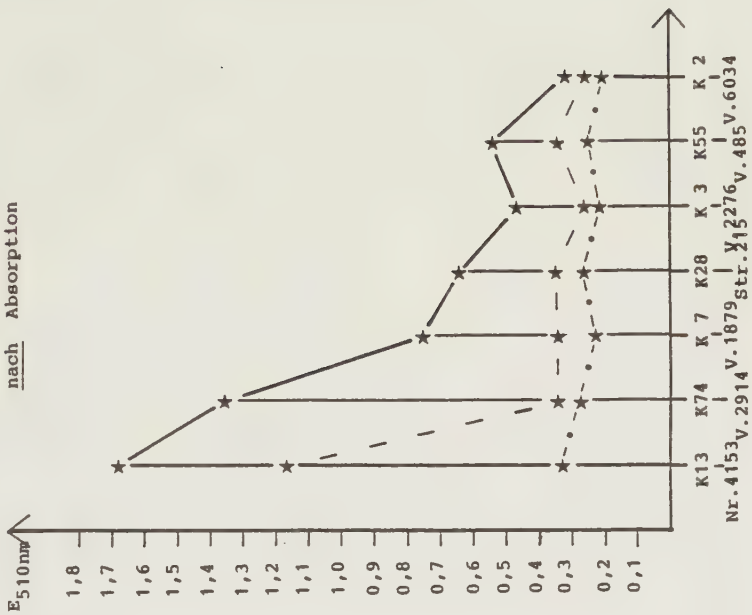
Patient 18 homologes Antigen: K 13 (Nr. 4153)

Serumprobe vom 18.2.80

Ig G



Ig G



Serumverd. 1:10² ★
Serumverd. 1:10³ ★
Serumverd. 1:10⁴ ★
Serumverd. 1:10⁵ ★

K 13 K 7 K 28 K 3 K 55 K 2
Nr. 4153 v. 291 V. 1879 Str. 2 V. 2276 v. 485 V. 6034

K 13 K 7 K 28 K 3 K 55 K 2
Nr. 4153 v. 2914 V. 1879 Str. 2 V. 2276 v. 485 V. 6034

Abb. 35 Einfluss der Absorption eines Patientenserums an K. pneumoniae K 3 auf Kreuzreaktionen innerhalb der K - Antigene im ELISA Patient 18 homologes Antigen: K 13 (Nr. 4153) Serumprobe vom 18.2.80

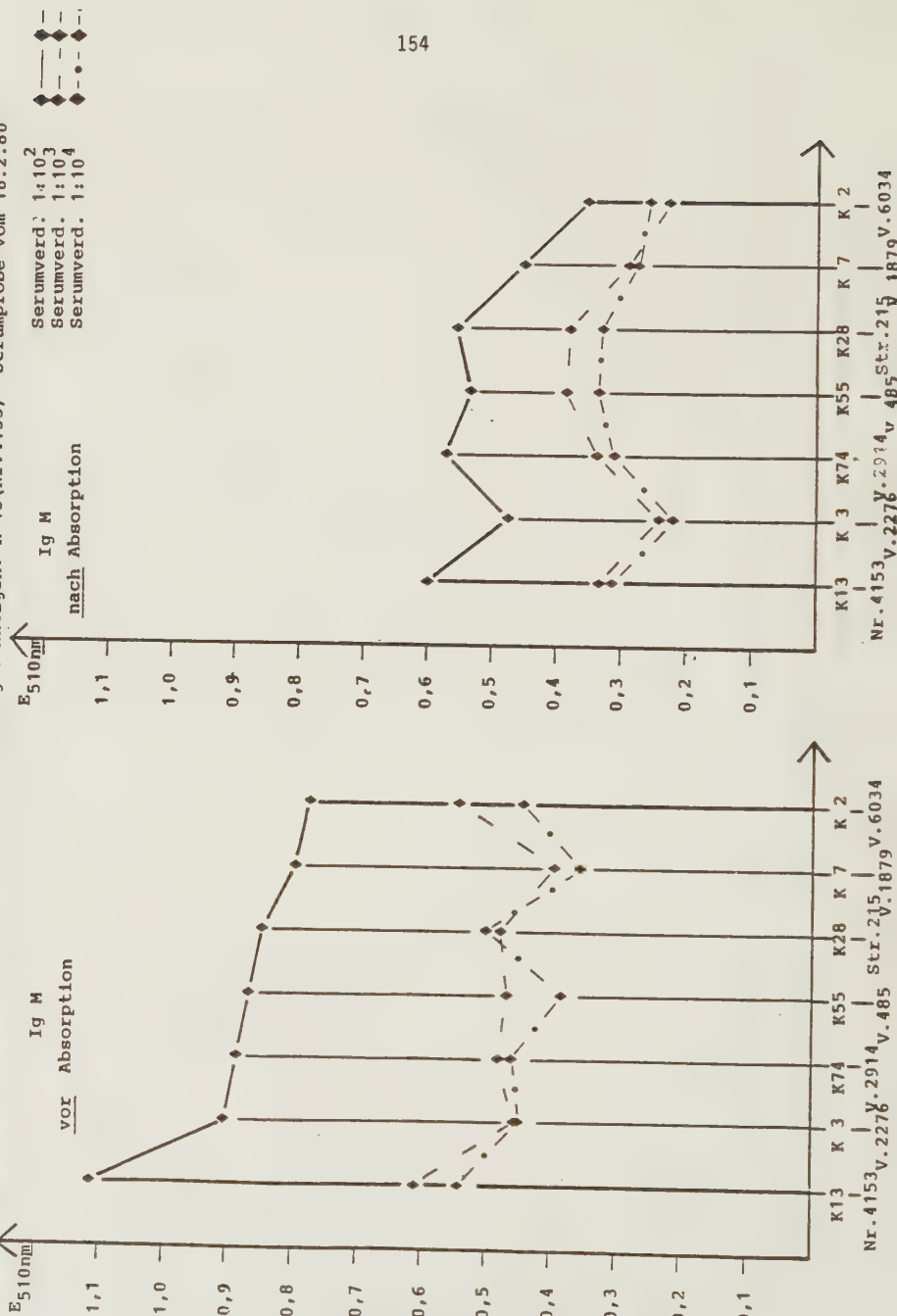


Abb.36 EINFLUSS WIEDERHOLTER ABSORPTION EINES PATIENTENSERUMS AN
K - MISCHANTIGEN (K 2, K 3, K 7, K 28, K 55, K 74) AUF DIE HOMOLOGE
REAKTION IM ELISA

Patient 18 homologes Antigen : K 13 (Nr.4153)
Serumprobe vom 18.2.80

ohne Absorption ———
nach der 1.Abs. — — —
nach der 3.Abs. — • — •
nach der 5.Abs. — o — o

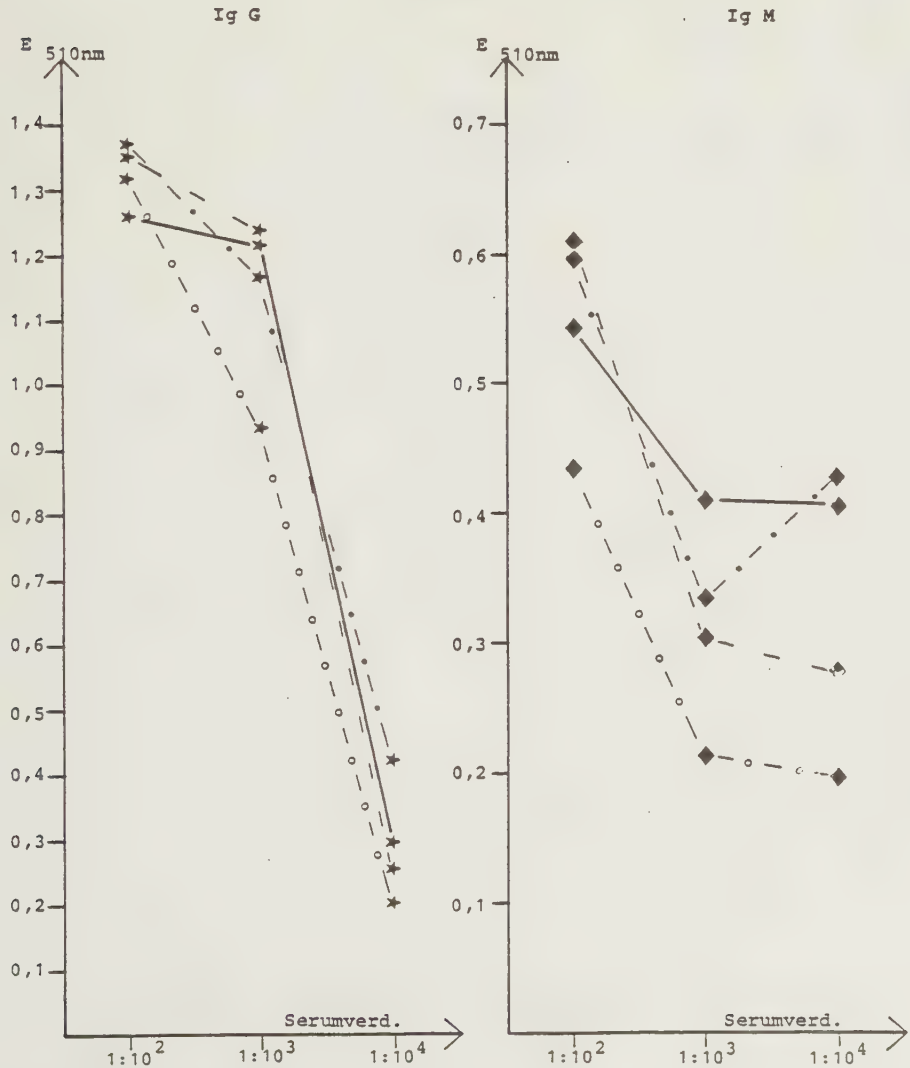
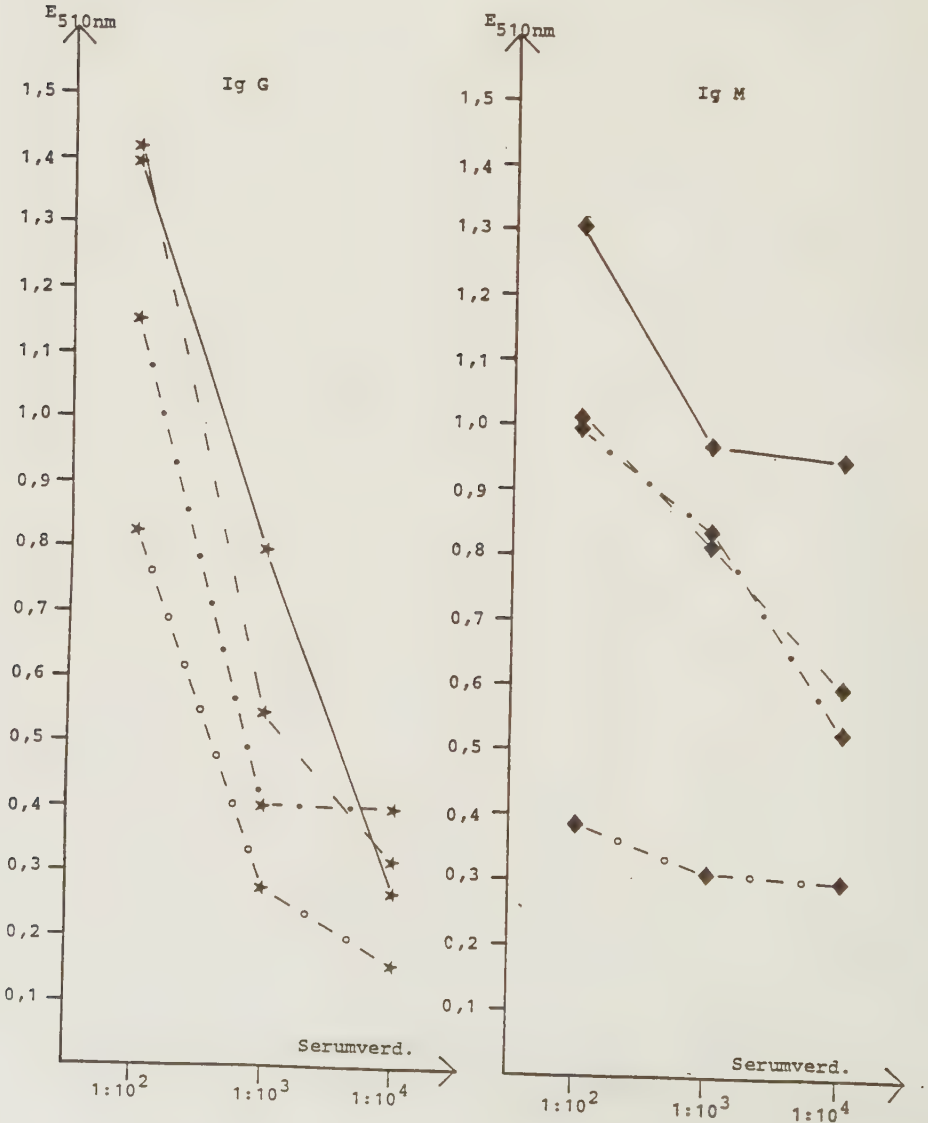


Abb.37 EINFLUSS WIEDERHOLTER ABSORPTION EINES PATIENTENSERUMS AN
K - MISCHANTIGEN (K 2, K 3, K 7, K 28, K 55, K 74) AUF DIE HETEROLOG
REAKTION MIT DEM MISCHANTIGEN IM ELISA

Patient 18 homologes Antigen: K 13 (Nr. 4153)
Serumprobe vom 18.2.80

ohne Absorption —
nach der 1. Abs. —
nach der 3. Abs. — •
nach der 5. Abs. — o



Tabellen

Tab. 1 - 1 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

[illegible]

Tab. 1 - 3 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Material mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
5	m	63 J	abszedierende Pneumonie mit Pleuraempyem bei z.n. abdomino-thorakalem Magenhochzug (29.11.79) bei dist. Oesophagus Ca Sepsis	2.12.79	Abstrich Thorax-drainage	Stamm Nr. V. 30196 E. coli	Erreger	2. 1.80 9: 5.80
				2.12.79				
				2.12.79		Thorax-tomie-wunde	S. epidermidis vergrünende Streptokokken S. epidermidis vergrünende Streptokokken	
				2.12.79	Penrose re			
				6.12.79	trans-tracheale Absaugung	V. 30698		
				6.12.79		Thorax-drainage	S. aureus	
				12.12.79		Anastomosen-drain	Peptostreptokokken	
				13.12.79		Wundabstrich Milzloge	S. aureus S. epidermidis	
				13.12.79		Anastomosen-drain	S. aureus	
				13.12.79	trans-tracheale Absaugung	V. 31325	P. aeruginosa	
18.12.79				Thorax-tomie-wunde	S. aureus			
19.12.79		Blutkultur	V. 31765	Enterokokken				
19.12.79		Drainage	V. 31845	S. aureus E. coli				
30.12.79		Blutkultur	V. 32365					
4. 1.80		Thorax-tomie-wunde	V. 388	S. aureus				

Tab. 1 - 4 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Stamm Nr.	Begleitflora	Material ohne	Klebsiella	Serumprobe
									Erreger	
6	w	70 J	Z.n.Rektum- amputation und Kolo- stomie bei Rektum Ca (1977) Tumörrezidiv im kleinen Becken	2. 1.80 2. 1.80	Cervix- abstrich Cervix- abstrich	V. 094 V. 188	Bacteroides sp. P. mirabilis			4. 1.80 9. 1.80 11. 1.80 24. 6.80 27. 8.80
7	m	59 J	Aspirations- pneumonie bei Z.n. Billroth II (30.12.79) bei rez. akuter Magen- blutung bei präpylorischem Ulcus, DK	4. 1.80 5. 1.80 7. 1.80 8. 1.80 29. 1.80	Sputum Sputum Sputum Sputum Urin	V. 370 V. 375 V. 2413		endo- tracheale Absaugung trans- tracheale Absaugung	E. cloacae Candida Candida	14. 1.80
8	m	69 J	chron. Emphysem- bronchitis	19.10.77 23.11.77 11. 1.80 15. 1.80	Sputum Sputum Sputum Sputum	V.32291 V.36306 V. 884 V. 1181	E. coli H. influenzae			16. 1.80
9	w	66 J	Pneumonie v.a. Lungen- fibrose mit chron. Cor pulmonale Bronchiek- tasen	9. 1.80 10. 1.80 10. 1.80 21. 1.80 21. 1.80	Sputum Sputum Sputum Sputum Sputum	V. 745	E. coli	Urin endo- tracheale Absaugung Urin Sputum	E. coli Enterobacter sp. E. coli Candida E. coli Candida	16. 1.80

Tab. 1 - 5 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Erreger	Serumprobe
Stamm Nr.									
10	w	50 J	HWT bei Z.n. vagina- ler Hyster- ektomie (11.1.80) Sekretstau im Scheiden- abfluß, DK	14. 1.80 14. 1.80	Urin Cervix- abstrich	V. 1174 V. 1189 P. aeruginosa Enterokokken E. coli P. mirabilis			23. 1.80
11	w	46 J	Z.n. A.mesen- terica sup.- Verschluß mit Zölkumkopf- nekrose, Hemi- kolektomie re Dünndarmteil- resektion (15.11.80) Bauchwand- abszeß pyelonephri- tische Schrumpf- niere li	13.11.79 27.11.79 4.12.79 12.12.79 13.12.79 13.12.79 13.12.79 13.12.79 13.12.79 15.12.79 16.12.79 23.12.79 25.12.79 25.12.79 25.12.79	Urin Cervix- abstrich Anal- abstrich	V. 31255 Enterokokken E. cloacae	Urin Penrose re Sputum Urin Urin Wund- abstrich Vaginal- abstrich Wund- abstrich Wund- abstrich Wund- abstrich Wund- abstrich Vaginal- abstrich Wund- abstrich	E. coli E. coli E. coli Candida E. coli E. coli Enterokokken E. coli Enterokokken E. coli Enterokokken E. coli Enterokokken S. epidermidis Enterokokken E. coli	24. 1.80 2. 5.80

Tab. 1 - 6 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumpuben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Stamm Nr.	Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Erreger	Serumprobe
11	w	46 J		25. 12. 79	Anal abstrich	V. 32110	E. coli S. epidermidis			
				1. 1. 80				Wund- abstrich	E. coli	
				8. 1. 80	Urin	V. 485				
				14. 1. 80	Urin	V. 1000				
				16. 1. 80				Wund- abstrich	E. coli	
				16. 1. 80	Urin	V. 1335				
				17. 1. 80				Fistel- gang Urin	E. coli	
				7. 2. 80					Enterokokken	
				8. 2. 80	Urin	V. 3458	P. vulgaris	Urin	P. vulgaris	
				14. 4. 80				Urin	P. vulgaris	
				15. 4. 80				Sputum	S. aureus	
				16. 4. 80					E. coli Candida	
				5. 5. 80	Rachen- abstrich	V. 10901	E. coli Candida			
				9. 5. 80				Urin	E. coli	
				28. 5. 80				Urin	E. coli	
				6. 6. 80				Urin	E. coli	
				10. 6. 80				Urin	E. coli	
				13. 6. 80				Urin	E. coli	
				27. 6. 80				Urin	E. coli	
				30. 6. 80				Urin	E. coli	
				1. 7. 80				Urin	E. coli	

Tab. 1 - 7

Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Material mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
						Stamm Nr.	Erreger	
12	w	84 J	Z.n.Resektion eines Adeno- Ca des Sigma mit Infiltration ins terminale Ileum (15.1.80) postoperativ rel. Atem- insuffizienz	15. 1.80 15. 1.80 21. 1.80 29. 1.80	trans- tracheale Absaugung naso- tracheale Absaugung	V. 1721 V. 2523	Bauchhöhlen- abstrich Abstrich Dünn- bzw Dickdarm	24. 1.80 P. aeruginosa Bacteroides sp. E. coli Bacteroides sp.
13	w	76 J	Pneumonie mit Pleura- erguß re bei Z.n. Myokard- infarkt chron. Bronchitis HWI	18. 1.80 28. 1.80 31. 1.80 7. 2.80 5. 3.80 28. 3.80 15. 4.80 8. 5.80 13. 5.80	Sputum Sputum Sputum Sputum Sputum Sputum Sputum Sputum Sputum	V. 1472 V. 2286 V. 2662 V. 3321 V. 6694 V. 7919 V. 9159	E. cloacae S. aureus Pseudomonas sp.	25. 1.80 11. 2.80 25. 4.80 16. 5.80
14	m	77 J	DK-Träger bei Z.n.zerebra- lem Insult Prostataade- nom, HWI bei Blasenstein Lithotripsie (5.2.80)	28. 1.80 29. 1.80 31. 1.80 4. 2.80	Urin Urin Urin	Str.291 Str.297 Str.302	Urin Urin Urin	30. 1.80 E. agglomerans 13. 2.80

Tab. 1 - 8 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne	Klebsiella	Serumprobe
						Stamm Nr.		Erreger	
15	w	50 J	HWI nach vaginaler Hysterektomie (28. 1.80),DK	31. 1.80 5. 2.80	Urin Urin	V. 2688 V. 3092			8. 2.80
16	w	31 J	V.a. Nierenabszeß li Weichteilabszeß li Oberschenkel unklare Sepsis Osteomyelitis V.a. Behcet-syndrom	1. 2.80 2. 2.80 3. 2.80 7. 2.80 19. 2.80 25. 2.80	Urin Urin Urin Urin Urin	V. 2760 V. 4379	S. aureus S. aureus S. aureus S. aureus E. coli	S. aureus S. aureus S. aureus S. aureus E. aureus haem. Streptokokken	11. 2.80
17	m	69 J	HWI bei Z.n. TUR Blase bei Transitionalzellpapillom (31.1.80),DK cribriformes Prostata Ca Z.n. Radiatio (Mai 80)	6. 2.80 8. 2.80 21. 2.80 14. 3.80 14. 4.80	Urin Urin Urin Urin Urin	Str.312 Str.339 Str.374 Str.430	Urin	E. coli	11. 2.80 18. 2.80 25. 2.80 8. 5.80 18.11.80

Tab. 1 - 9 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material der Untersuchung	Material mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
Stamm Nr.								
18	w	64 J	Neurogene Blasenentleerungsstörung mit Hydronephrosen und Hydroureteren	10. 1.80 16. 1.80			Erreger	
			bds.	24. 1.80			E. coli	18. 2.80
			Urosepsis	9. 2.80			Candida	24. 7.80
			Z.n. Radiumeinlagen und Teilekobaltbestrahlung	9. 2.80			Enterobacter spezieles	25. 11.80
			Ca colli Ib (1954)				Pseudomonas spezieles	
							P. mirabilis	
					Blutkultur Nr. 4153			
					Urin Nr. 5272	Enterokokken P. mirabilis	Blutkultur	
19	m	61 J	Bronchopneumonie bei chron. Emphysembreanchitis Alkoholabusus	Febr. 80	Sputum		Candida	20. 2.80
V/1855								
20	w	42 J	HMI untere Nierenpolresektion li (15.2.80) bei Nierenbeckenstein li und obturierend	6. 2.80 8. 2.80 17. 2.80 21. 2.80 17. 9.80 9. 3.81	Urin Urin		E. coli E. coli	25. 2.80 3. 3.80 10. 3.80 12. 5.80 10.12.80
			Kelchstein mit Hydrocalix DK postop. bis 19.2.80				E. coli E. coli	

Tab. 1 - 10 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Material mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
					Stamm Nr.	Erreger		
21	m	19 J	zentrale Pneumonie bei wh. Aspiration bei Z.n.akutem subduralem Hämatom re anhaltende Diarrhoe	Febr. 80 4. 3.80	Bronchialsekret Stuhl	V/1988 ?	Candida alb. Pseudomonas sp.	26. 2.80
22	m	72 J	Platzbauch HWI und Pneumonie bei Z.n. Resektion einer Narbenstenose(30.1.) bei Z.n. totaler Gastrektomie bei ausgedehntem Adeno Ca des Magens (Juli 79)	1. 2.80 2. 2.80 5. 2.80 29. 2.80	Sputum Wunde Bauchdecke Wunde Bauchdecke Wunde Bauchdecke Urin Urin Wunde Bauchdecke	V. 2912 V. 2914 V. 3171 V. 5340	P. aeruginosa C. freundii E. cloacae P. aeruginosa Enterokokken C. freundii P. aeruginosa S. aureus E. coli P. aeruginosa	28. 2.80 6. 3.80 21. 3.80 18. 4.80 29. 4.80
23	w	80 J	Aspirationspneumonie bei Schluckstörung bei Zenkerschlem Divertikel postop.(5.2.80) HWI bei DK	21. 1.80 21. 1.80 31. 1.80 6. 2.80 14. 2.80	Sputum Urin Sputum endotracheale Absaugung Urin	V. 1879 V. 1765 V. 2772 V. 3281 V. 4050	P. morganii E. coli P. morganii Enterokokken P. morganii P. mirabilis	1. 3.80

Tab. 1 - 11 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
						Stamm Nr.	Erreger	
24	w	53 J	Infekt der oberen Luftwege stat. Aufnahme nahme zur med. Cardioversion von Vorhof-flimmern Z.H. Radiojod-therapie einer hyperthyreoten Struma diffusa Grad I (1976)	16. 2.80 21. 2.80	Sputum Sputum	V. 4256 V. 4547	H. Influenzae	3. 3.80 17. 5.80 1. 9.80
25	w	43 J	HWI nach vaginaler Hysterektomie (29.2.80), DK	3. 3.80 13. 3.80	Urin Urin	V. 5420 V. 6627		10. 3.80
26	m	47 J	Sepsis bei Z.n. vorderer Beckenring-fraktur re und li Blasenruptur Urethral-abriß Alkohol-abusus	12. 3.80	Blutkultur	V/3999		18. 3.80

Tab. 1 - 13 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Material mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
					Stamm Nr.	Erreger		
28	m	33 J	Broncho-pneumonie bei Z.n. prox. sei. Vagotomie bei blutendem Ulcus (14.3.80)	16. 3.80	endo-tracheale Absaugung	V. 6601	S. aureus	21. 3.80
29	w	36 J	Z.n. vaginaler Hysterektomie (5.3.80) Adnektomie re, Salpingektomie li, Beckenbodendrainage (9.3.80) wegen Beckenbodenabszeß HWI bei DK	7. 3.80 9. 3.80 9. 3.80 17. 3.80 20. 3.80	Urin Cervix-abstrich Beckenboden-abstrich Beckenboden-abstrich Urin Urin	V. 6034 V. 5594 V. 5999 V. 6000 V. 6815 V. 7026	E. coli vergrünende Streptokokken	21. 3.80 13. 5.80 7.10.80
30	m	73 J	HWI bei DK bei diffusen intrazerebralen Kontusionsblutungen V.a. pyelonephritische Residuen re	2. 4.80 17. 4.80 28. 4.80 30. 4.80	Urin Urin Urin	V. 8060 V. 10461 V. 10634	P. aeruginosa trans-tracheale Absaugung Enterokokken	10. 4.80

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebstoff	Klebstoff	Serumprobe
Stamm Nr.									
32	w	56 J		21. 4.80 21. 4.80			Urin endo- tracheale Absaugung endo- tracheale Absaugung Urin Sputum E. coli	Enterokokken P. aeruginosa S. aureus C. freundii P. aeruginosa C. freundii S. aureus E. coli P. aeruginosa P. aeruginosa	
33	m	77 J	HWI bei Prostata-adenom mit erheblicher Restharmenge und Blasen-divertikeln	9. 4.80 11. 4.80	Urin Urin	V. 8612 V. 8811			15. 4.80 30. 4.80
34	w	48 J	HWI bei Z.n. Bauchdeckenrevision (26.3.80) wegen Narbenhernie	2. 4.80	Urin	V. 8068			16. 4.80 30. 4.80

Tab. 1 - 16 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne	Klebsiella	Serumprobe
					Stamm Nr.		Erreger		
35	m	54 J	Sepsis bei Z.n. eitriger Peritonitis	2. 2.80			Bauchhöhlenabstrich	Enterokokken E. coli P. mirabilis	21. 4.80 29. 4.80 21. 5.80
			bei Karzinoid im Ileocaecalbereich	5. 2.80	Wundabstrich	V. 3173	Enterokokken P. vulgaris		24. 6.80
			Platzbauch nach ileo-transversotomie (2.2.80)	6. 2.80			endo-tracheale Absaugung	Enterokokken E. coli P. aeruginosa P. vulgaris	15. 7.80 28. 8.80
			Kotfisteln	7. 2.80			Platzbauchabstrich	Enterokokken E. coli	
				8. 2.80			Sputum	P. aeruginosa P. vulgaris	
				17. 2.80			Sputum	P. aeruginosa P. aeruginosa P. vulgaris	
							endo-tracheale Absaugung	E. coli P. vulgaris	
				10. 3.80			Urin	Candida	
				17. 3.80			Sputum	Enterokokken Enterokokken P. aeruginosa	
				25. 3.80			Venenkatheter	P. aeruginosa P. vulgaris Enterokokken P. aeruginosa	
				9. 4.80	Blutkultur	V. 8625			
				10. 4.80	Blutkultur	V. 8825			
				16. 6.80			Sputum	P. aeruginosa P. mirabilis Candida	

Tab. 1 - 18 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Material mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
					Stamm Nr.	Erreger		
36	m	59 J		15. 5.79 22. 4.80 28. 4.80 7. 5.80 8. 5.80 2. 6.80 14. 7.80	Urin Urin Urin Urin Urin Urin Urin	U 8289 Str.452 Str.456 Str.478 Str.483 U 891 U 1135		
37	w	86 J	Pneumonie	Mai 80	Sputum	V/6422	Candida	22. 5.80
38	m	67 J	chron. Emphysem-bronchitis	Juni 80	Sputum	V/7927		25. 6.80 18.11.80
39	w	75 J	Sepsis bei akuter Pankreatitis v.a. Chole-dochusstein	Juni 80	Blutkultur	V/8080		27. 6.80
40	m	77 J	akute Tracheo-bronchitis beg. Broncho-pneumonie	Juni 80	Sputum	V/8112		1. 7.80 18. 7.80 8. 9.80

Tab. 1 - 19 Übersicht über Patientendaten, mikrobiologische Befunde und Serumproben

Patient	Geschl.	Alter	Diagnose	Datum der Isolierung	Material	Stamm Nr.	Material mit Kleb. und Begleitflora	Material ohne Klebsiella	Serumprobe
41	m	76 J	Broncho-pneumonie bei chron. Emphysem-bronchitis Pyelonephritis	Juli 80 Juli 80	Sputum Urin	V/8374 ?	Pneumokokken	Erreger	10. 7.80 17. 7.80 1. 8.80
42	m	77 J	Broncho-pneumonie bei Septikämie Cor pulmonale chronicum bei ausgeprägtem Lungenemphysem	Juni 80 Juni 80	Sputum	V/8856	Candida	Blutkultur	S. epidermidis 15. 7.80

Tab. 2 - 1 Ergebnisse der Typisierungen der Patientenstämme

Patient	Stamm	Biotyp	Serotyp	Bakteriozin- typ	Gatb	Tic	Azlo	Mezlo	Pipera	C-Ioth	C-Urx	C-Man	C-Tian	C-Fox	C-Tax	C-tri	C-tiz	Lamox	C-per	Kana	Genta	Tobra	Netil	Ami	Strepto	Rif	Tetra	Cml	Sm-Trib	Sm	Trim	Nx	Nitro
1	Str. 5	1	K 10	3	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	R	R	R	e	
	Str. 16	1	K 10	3	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	R	R	R	e		
	Str. 19	1	K 10	1 3 7	R	R	R	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	e	
	Str. 63	1	K 10	3	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	e	
	Str. 125	1	K 10	3456	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	e	
	Str. 162	1	K 10	3456	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	e	
	Str. 257	1	K 10	2 7	R	R	R	e	e	R	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	e	
2	Str. 210	1	K 31	123	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
	Str. 211	1	K 31	123	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
	Str. 235	1	K 53	34 6	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
	Str. 244	1	K 53	34 6	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
	Str. 318	1	K 53	34 6	R	e	e	e	e	R	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e
	Str. 209	1	K 2	12 5	R	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	R	e	e	R	e	R	R	R	e
3	Str. 212	1	K 2	12 5	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	e	R	R	R	e
	Str. 243	1	K 2	123456	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	e	R	R	R	e
	Str. 255	1	K 2	123456	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	e	R	R	R	e
	Str. 274	1	K 2	2 7	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	e	R	R	R	e
	Str. 335	1	K 2	2 7	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	e	R	R	R	e
	Str. 508	1	K 2	123456	R	R	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	R	e	R	R	R	e

Tab. 2 - 2 Ergebnisse der Typisierungen der Patientenstämme

Patient Stamm	Biotyp	Serotyp	Bakteriozin- typ	Carb	Tic	Azlo	Mezlo	Pipera	C-loth	C-urx	C-man	C-tiam	C-fox	C-tax	C-tri	C-tiz	Iamox	C-per	Kana	Genta	Tobra	Netil	Ami	Strepto	Rif	Tetra	Cml	Sm-Trim	Sm	Trim	Nx	Nitro
4	Str. 215	1 K 28	123456			R	e	e	e	e	e	e	e	e		e	e	e	e	e	e	e			R	e	e		e	e	e	e
	Str. 240	1 K 28	2 5 7			R	e	e	R	e		R	e	e			e	e	e	e	e		e		R	e	e		R	e	e	e
	Str. 267	1 K 28	123456			R	e	e	e	e		e	e	e			e	e	e	e	e		e		R	e	e		e	e	e	e
5	V. 32365	2 K 55	3		e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	R	e	e
	V. 388	2 K 55	3		e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	R	e	e
6	V. 094	1 K 35	3456		e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e
7	V. 370	1 ?	23456		R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	R	e	e
	V. 375	1 ?	23456		R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	R	e	e
	V. 2413	1 ?	23456		R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	R	e	e
8	V. 884	3 K 68	1 3456 8		e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e
	V. 1181	3 K 68	1 3456 8		e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e
9	V. 745	2 K 74	1 3		e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e
10	V. 1174	1 K 2	3456		R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	e	e	e	R	R	e	e

Tab. 2 - 3 Ergebnisse der Typisierungen der Patientenstämme

Patient Stamm	Biotyp	Serotyp	Bakteriozin typ	Carb	Hic	Azlo	Mezlo	Pipera	C-1oth	C-urx	C-man	C-tiam	C-fox	C-tax	C-tri	C-tiz	Lamox	C-per	Kana	Genta	Tobra	Netil	Ami	Strepto	Rif	Tetra	Cml	Sm-Tyrim	Sm	Trim	Nx	Nitro
11	V. 485	2	K 55	3	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	e	e	e
	V. 1000	2	K 55	3	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	e	e	e	
	V. 3458	1	?	1234567	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	e	e	e	
	V.10901	1	K 54	3	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	
12	V. 1721	2	K 55	3	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e
	V. 2523	2	K 55	3	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e
13	V. 1472	2	K 16	1 3456	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	e	e
	V. 2286	1	?	1 3456	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	e	e	
	V. 2662	1	?	1 3456	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	e	e	R	R	e	e	e	
	V. 3321	1	?	1 3456	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	e	e	R	R	e	e	e	
	V. 6694	1	?	1 3456	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	e	e	R	R	e	e	e	
V. 9159	1	?	1 3456	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	e	e	R	R	e	e	e	
14	Str. 291	1	K 28	34	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	e	R	e	e	e	e
	Str. 297	1	K 28		R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	e	R	e	e	e	e
	Str. 302	1	K 28		R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	e	R	e	e	e	e
15	V. 2688	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	e	e	R	R	e	e	e
	V. 3092	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	e	e	R	R	e	e	e

Tab. 2 - 4 Ergebnisse der Typisierungen der Patientenstämme

Patient	Stamm	Biotyp	Serotyp	Bakteriozin- typ	Carb	Tic	Azlo	Mezlo	Pipera	C-Loth	C-urx	C-man	C-tiam	C-fox	C-tax	C-tri	C-tiz	Lamox	C-per	Kana	Genta	Tobra	Netil	Ami	Strepto	Rif	Tetra	Cml	Sm-Trim	Sm	Trim	Nx	Nitro
16	V. 2760	1	K 79	3456 8	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	e	
	V. 4379	1	K 79	3456 8	R	R	R	R	e	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	e	
17	Str. 312	1	K 28		R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	e	e	e	e	R	R	e	e	R	e	
	Str. 339	1	K 28	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	e	e	e	R	R	e	e	R	e		
	Str. 374	1	K 28	23	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	R	e	e	R	e		
	Str. 430	1	K 28		R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	R	e	e	R	e		
18	Nr. 4153	1	K 13	1234567	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	e	
19	V/1855	2	K 15	1 3 8	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	R	e	
20	Str. 325	1	K 35	2 5 7	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
	Str. 338	1	K 35	3456	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
21	V/1988	1	K 30	3456	R	R	R	R	R	R	e	R	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	e	
22	V. 2914	6	K 74	2	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	
	V. 3171	6	K 74	2	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e		
	V. 8863	1	K 20	123	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e		
	V. 9080	1	K 20	123	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e		

Tab. 2 - 5 Ergebnisse der Typisierungen der Patientenstämme

Patient Stamm	Biotyp	Serotyp	Bakteriozin- typ	Carb	Tic	Azlo	Mezlo	Pipera	C-loth	C-urx	C-man	C-tiam	C-fox	C-tax	C-tri	C-tiz	Lamox	C-per	Kana	Genta	Tobra	Netil	Ami	Strepto	Rif	Tetra	Cml	Sm-Trim	Sm	Trim	Nx	Nitro	
23	V. 1879	1	K 7	1	B	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e		
	V. 2772	1	K 7	1	B	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e		
	V. 3281	1	K 7	1	B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	e	e	
	V. 4050	1	K 7	1	B	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	e	e	
24	V. 4256	7	K 53	3456 B	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	R	e	e	
	V. 4547	7	K 53	3456 B	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	e	e	e	e	R	R	e	e	
25	V. 5420	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	e	e
	V. 6627	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	e	e
26	V/3999	2	K 9	3	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	R	e	e	
27	V.32114	5	K 3	123456	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	R	e	e	
	V. 2276	5	K 3	123456	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	R	e	e		
	V. 6600	5	K 3	123456	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	R	e	e		
	V. 6980	5	K 3	123456	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	R	R	e	e		
28	V. 6601	2	?	1 3456	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	

Tab. 2 - 6 Ergebnisse der Typisierungen der Patientenstämme

Patient	Stamm	Biotyp	Serotyp	Bakteriozin- typ	Carb	Tic	Azlo	Mezlo	Pipera	C-loth	C-urx	C-man	C-tlam	C-fox	C-tax	C-tri	C-tiz	Lamox	C-per	Kana	Genta	Tobra	Netil	Aml	Strepto	Rif	Tetra	Cml	Sm-Trin	Sm	Trin	Nx	Nitro
29	V. 5999	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	R	e	R	R	e	e	
	V. 6000	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	R	e	R	R	e	e	
	V. 6034	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	R	e	R	R	e	e	
	V. 6815	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	R	e	R	R	e	e	
	V. 7026	1	K 2	3456	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	R	e	R	R	e	e	
30	V. 8060	1	K 20	123	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	e	
	V.10461	1	K 20	123	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	e	
	V.10634	1	K 20	123	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	e	
31	V. 8082	3 ,	K 36	1 34 6 8	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
32	V. 7166	2	K 41	3456 8	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
33	V. 8612	1	K 63	3456 8	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	e	
	V. 8811	1	K 63	3456 8	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	R	R	e	e	
34	V. 8068	1	K 35	8	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
35	V. 8625	4	K 10	23456	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	
	V. 8825	4	K 10	23456	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	

Tab. 2 - 7 Ergebnisse der Typisierungen der Patientenstämme

Patient Stamm	Biotyp	Serotyp	Bakteriozin- typ	Carb	Tic	Azlo	Mezlo	Pipera	C-1oth	C-urx	C-man	C-tlam	C-fox	C-tax	C-tri	C-tiz	Lamox	C-per	Kana	Genta	Tobra	Netil	Ami	Strepto	Rif	Tetra	Cml	Sm-Trim	Sm	Trim	Nx	Nitro
36 Str.452	2	K 74	12345678		R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e		e		R				R	R
Str.456	2	K 74	12345678		R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e		R		R				R	R
Str.483	2	K 74	12345678		R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e		R		R				R	R
37 V/6422	3	K 47	3 8	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e			e
38 V/7927	4	K 14	1 3																													
39 V/8080	1	K 71	1234567	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e			e
40 V/8112	4	K 64	3 8	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e			e
41 V/8374	1	K 45	3456	R	R	R	R	R	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R			e
42 V/8856	1	?	3456	e	e	R	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	e	R	e	e	e	e	e	e			e

Tab. 3 Vergleich der Extinktion im ELISA bei
K - Mischantigen oder homologem K - Antigen

Patient		K - Mischantigen			homologes K - Antigen		
		Serumverdünnung					
		1:10 ²	1:10 ³	1:10 ⁴	1:10 ²	1:10 ³	1:10 ⁴
3	Ig A	0,925	0,212	0,119	0,905	0,218	0,155
(K 2)	Ig G	1,712	1,206	0,455	1,707	0,936	0,442
14. 5.80	Ig M	1,039	0,215	0,137	0,826	0,234	0,161
4	Ig A	1,197	0,237	0,121	1,446	0,317	0,143
(K 28)	Ig G	1,334	0,666	0,234	1,663	0,723	0,207
3. 1.80	Ig M	1,369	0,353	0,156	1,394	0,326	0,128
18	Ig A	0,760	0,351	0,138	1,239	0,262	0,132
(K 13)	Ig G	1,670	1,625	0,523	1,825	1,432	0,482
18. 2.80	Ig M	0,759	0,243	0,149	0,750	0,215	0,164
23	Ig A	0,221	0,123	0,101	0,178	0,109	0,101
(K 7)	Ig G	0,612	0,211	0,147	0,426	0,167	0,168
1. 3.80	Ig M	0,362	0,149	0,148	0,261	0,116	0,108
27	Ig A	0,530	0,205	0,157	0,405	0,186	0,133
(K 3)	Ig G	1,168	0,408	0,171	0,989	0,291	0,149
29. 4.80	Ig M	0,223	0,135	0,151	0,313	0,147	0,126

Tab. 4-1 Antikörper - Titer gegen K. pneumoniae K - Antigen im ELISA

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung		
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
1	Str. 162	E	1,062	0,319	0,139	1,606	0,733	0,214	0,731	0,204	0,116
		Qu	5,649	2,085	0,827	5,970	4,141	1,354	3,481	1,351	0,906
	K 10	E	0,994	0,281	0,146	1,601	0,833	0,227	0,692	0,199	0,118
		Qu	5,287	1,837	0,869	5,952	4,706	1,437	3,295	1,318	0,922
	7. 1.80	E	0,973	0,269	0,136	1,674	0,843	0,258	0,665	0,189	0,118
		Qu	5,176	1,758	0,810	6,223	4,763	1,633	3,167	1,252	0,922
	11. 1.80	E	0,967	0,269	0,144	1,707	0,961	0,285	0,698	0,249	0,140
		Qu	5,144	1,758	0,857	6,346	5,429	1,804	3,324	1,649	1,094
	17. 1.80	E	0,873	0,282	0,156	1,581	0,844	0,255	0,641	0,221	0,139
		Qu	4,644	1,843	0,929	5,877	4,768	1,614	3,052	1,464	1,086
	29. 5.80	E	1,046	0,272	0,153	1,793	1,017	0,380	0,611	0,239	0,144
		Qu	5,564	1,778	0,911	6,665	5,746	2,405	2,910	1,583	1,125
	2. 9.80	E	1,186	0,274	0,173	1,803	1,052	0,292	0,748	0,232	0,165
		Qu	6,309	1,791	1,030	6,703	5,944	1,848	3,562	1,536	1,289

E: Extinktion 510 nm
Qu: Epat.S. / E⁻Neg.S.

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M			E: Extinktion 510 nm Qu: E _{Pat.S.} /E _{Neg.S.}	
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung				
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴		
2	Str.210 K 31	19.12.79	E	0,181	0,125	0,111	0,416	0,224	0,193	0,537	0,217	0,115	
		Qu	1,240	1,033	0,957	1,249	0,996	0,995	3,782	1,779	1,036		
	28.12.79	E	0,834	0,235	0,121	1,331	0,437	0,214	0,938	0,385	0,136		
		Qu	5,712	1,942	1,043	3,997	1,942	1,103	6,606	3,156	1,225		
	3. 1.80	E	0,584	0,199	0,123	1,170	0,411	0,232	0,750	0,318	0,144		
		Qu	4,000	1,645	1,060	3,514	1,827	1,196	5,282	2,607	1,297		
	10. 1.80	E	0,556	0,218	0,144	1,372	0,511	0,253	0,871	0,401	0,175		
		Qu	3,808	1,802	1,241	4,120	2,271	1,304	6,134	3,287	1,577		
	6. 2.80	E	0,304	0,161	0,134	0,820	0,337	0,228	0,725	0,296	0,143		
		Qu	2,082	1,331	1,155	2,462	1,498	1,175	5,106	2,426	1,288		
	1. 9.80	E	0,264	0,144	0,120	0,524	0,263	0,213	0,603	0,312	0,145		
		Qu	1,808	1,190	1,034	1,574	1,169	1,098	4,246	2,557	1,306		
	26. 1.81	E	0,239	0,157	0,137	0,512	0,277	0,214	0,559	0,302	0,151		
		Qu	1,637	1,298	1,181	1,538	1,231	1,103	3,937	2,475	1,360		

Antikörper - Titer gegen K. pneumoniae K - Antigen im ELISA

E: Extinktion 510 nm
 Qu: E_{Pat.S.}/E_{Neg.S.}

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung		
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
2	Str. 244 K 53	19.12.79	E 0,207	0,130	0,117	0,448	0,264	0,214	0,474	0,279	0,168
			Qu 1,617	1,074	0,944	1,974	1,459	1,313	2,908	2,146	1,292
		28.12.79	E 0,193	0,130	0,115	0,365	0,259	0,202	0,453	0,233	0,159
			Qu 1,508	1,074	0,927	1,608	1,431	1,239	2,779	1,792	1,223
		3. 1.80	E 0,184	0,130	0,119	0,353	0,241	0,197	0,395	0,235	0,154
			Qu 1,438	1,074	0,960	1,555	1,331	1,209	2,423	1,808	1,185
		10. 1.80	E 0,236	0,172	0,149	0,420	0,303	0,232	0,525	0,298	0,179
			Qu 1,884	1,421	1,202	1,850	1,674	1,423	3,221	2,292	1,377
		6. 2.80	E 0,330	0,174	0,138	0,820	0,364	0,234	0,780	0,420	0,193
			Qu 2,578	1,438	1,113	3,612	2,011	1,436	4,785	3,231	1,485
		1. 9.80	E 0,235	0,151	0,129	0,483	0,296	0,220	0,622	0,363	0,185
			Qu 1,836	1,248	1,040	2,128	1,635	1,350	3,816	2,792	1,423
		26. 1.81	E 0,231	0,143	0,120	0,545	0,286	0,218	0,625	0,370	0,190
			Qu 1,805	1,182	0,968	2,401	1,580	1,337	3,834	2,846	1,462

Tab. 4-4 Antikörper - Titer gegen K. pneumoniae K - Antigen im ELISA

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M			E: Extinktion 510 nm Qu: E _{Pat.s.} /E _{Neg.s.}	
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung				
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴		
3	Str. 255	19.12.79	E	0,329	0,184	0,135	0,746	0,350	0,166	0,511	0,263	0,238	
	K 2		Qu	1,567	0,995	0,736	2,162	1,786	0,938	2,581	1,613	1,597	
		27.12.79	E	0,351	0,168	0,137	0,806	0,399	0,209	0,569	0,252	0,134	
			Qu	1,671	0,908	0,774	2,336	2,036	1,181	2,874	1,546	0,899	
		4. 1.80	E	0,368	0,176	0,182	0,871	0,440	0,208	0,555	0,239	0,146	
			Qu	1,752	0,951	1,028	2,525	2,245	1,175	2,803	1,466	0,980	
		10. 1.80	E	1,002	0,198	0,133	1,185	0,584	0,277	0,899	0,269	0,205	
			Qu	4,771	1,070	0,751	3,435	2,980	1,565	4,540	1,650	1,376	
		20. 2.80	E	0,757	0,184	0,135	1,367	0,594	0,239	0,926	0,291	0,176	
			Qu	3,605	0,995	0,763	3,962	3,031	1,350	4,677	1,785	1,181	
		14. 5.80	E	1,081	0,214	0,151	1,706	0,915	0,380	1,163	0,251	0,151	
			Qu	5,148	1,157	0,853	4,945	4,668	2,147	5,874	1,540	1,013	
		26. 6.80	E	1,096	0,226	0,151	1,775	0,930	0,321	1,185	0,236	0,145	
			Qu	5,219	1,222	0,853	5,145	4,745	1,814	5,985	1,448	0,973	
		1. 7.80	E	0,935	0,206	0,160	1,650	0,849	0,401	1,047	0,271	0,175	
			Qu	4,452	1,114	0,904	4,783	4,332	2,266	5,288	1,663	1,174	
		9. 7.80	E	0,928	0,248	0,186	1,640	0,855	0,336	0,956	0,3123	0,179	
			Qu	4,419	1,341	1,051	4,754	4,362	1,898	4,828	1,914	1,201	
		18. 8.80	E	0,792	0,202	0,164	1,594	0,662	0,268	0,820	0,253	0,158	
			Qu	3,771	1,092	0,927	4,620	3,378	1,514	4,141	1,552	1,060	

E: Extinktion 510 nm
 Qu: E_{Pat.S.}/E_{Neg.S.}

E: Extinktion 510 nm
Qu: Epat.S./E_{Neg.S.}

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung		
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
3	Str.255 K 2	18.11.80	E 0,429	0,201	0,149	1,232	0,527	0,253	0,584	0,221	0,161
			Qu 2,043	1,086	0,842	3,571	2,689	1,429	2,949	1,356	1,081
		8. 2.81	E 0,349	0,198	0,211	1,067	0,530	0,387	0,534	0,297	0,220
4	Str.215 K 28	27.12.79	E 0,914	0,220	0,144	1,351	0,455	0,171	0,880	0,383	0,167
			Qu 5,642	1,594	1,051	4,724	2,556	1,148	4,944	2,736	1,246
		3. 1.80	E 1,386	0,400	0,169	1,507	0,880	0,232	1,061	0,528	0,199
10.	1.80		Qu 8,556	2,899	1,234	5,269	4,944	1,557	5,961	3,771	1,485
			E 1,347	0,397	0,187	1,573-	0,997	0,262	1,090	0,585	0,241
			Qu 8,315	2,877	1,365	5,500	5,601	1,758	6,124	4,179	1,799
17.	1.80		E 1,185	0,313	0,165	1,528	0,820	0,250	1,063	0,558	0,216
			Qu 7,315	2,268	1,204	5,343	4,607	1,678	5,972	3,986	1,612
		27. 8.80	E 0,605	0,231	0,179	1,056	0,491	0,224	0,859	0,507	0,230
5	V. 388 K 55		Qu 3,735	1,674	1,307	3,692	2,758	1,369	4,826	3,621	1,716
		2. 1.80	E 0,446	0,243	0,184	0,770	0,294	0,167	0,331	0,172	0,138
			Qu 2,788	1,538	1,195	2,232	1,633	0,949	1,607	1,229	0,965
9.	5.80		E 0,479	0,278	0,189	0,631	0,311	0,186	0,460	0,270	0,239
			Qu 2,994	1,759	1,227	1,829	1,728	1,057	2,233	1,929	1,671

E: Extinktion 510 nm
 Qu: E_{Pat.S.}/E_{Neg.S.}

Patient Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
6 V. 094 K 35	4. 1.80 E	0,525	0,225	0,156	1,735	1,258	0,398	0,441	0,212	0,160
	Qu	3,088	1,531	1,122	4,305	4,279	1,491	1,771	1,211	1,103
	9. 1.80 E	0,624	0,246	0,163	1,715	1,276	0,482	0,394	0,203	0,157
	Qu	3,671	1,673	1,173	4,256	4,340	1,805	1,582	1,160	1,083
	11. 1.80 E	0,491	0,217	0,163	1,806	1,200	0,483	0,413	0,210	0,171
	Qu	2,888	1,476	1,173	4,481	4,082	1,809	1,659	1,200	1,179
7 V. 2413 nicht K-sero- typisier- bar	24. 6.80 E	1,281	0,308	0,192	1,870	1,714	0,856	0,520	0,230	0,173
	Qu	7,535	2,095	1,381	4,640	5,830	3,206	2,088	1,314	1,193
	27. 8.80 E	0,716	0,253	0,176	1,800	1,592	0,614	0,301	0,211	0,181
	Qu	4,212	1,721	1,266	4,467	5,415	2,300	1,209	1,206	1,248
	14. 1.80 E	0,406	0,228	0,169	1,325	0,454	0,215	0,361	0,185	0,173
	Qu	3,076	1,652	1,280	7,162	2,686	1,236	2,256	1,341	1,193
8 V. 1181 K 68	16. 1.80 E	0,388	0,287	0,278	0,372	0,289	0,210	0,201	0,155	0,134
	Qu	1,558	1,100	1,193	1,431	1,460	1,071	1,092	1,062	1,031

E: Extinktion 510 nm
 Qu: E_{Pat.S.}/E_{Neg.S.}

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M			
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
9	V. 745	16. 1.80	E	0,277	0,193	0,157	0,583	0,280	0,164	0,463	0,230	0,175
	K 74		Qu	1,753	1,350	1,040	1,881	1,806	1,206	1,619	1,369	1,080
10	V. 1189	23. 1.80	E	0,406	0,219	0,189	0,635	0,303	0,222	0,516	0,267	0,154
	K 2		Qu	2,619	1,470	1,243	1,966	1,515	1,220	2,646	2,070	1,262
		9. 5.80	E	0,313	0,193	0,169	0,552	0,262	0,203	0,461	0,253	0,193
			Qu	2,019	1,295	1,112	1,709	1,310	1,115	2,346	1,961	1,582
11	V. 1000	24. 1.80	E	0,138	0,068	0,055	0,452	0,146	0,056	0,101	0,058	0,047
	K 55		Qu	2,262	1,193	0,917	1,668	1,413	1,000	1,329	0,784	0,712
		2. 5.80	E	0,150	0,095	0,064	0,337	0,175	0,078	0,178	0,103	0,060
			Qu	2,459	1,667	1,067	1,244	1,716	1,393	2,342	1,392	0,909
11	V. 3458	24. 1.80	E	0,143	0,093	0,075	0,303	0,126	0,061	0,108	0,067	0,053
	nicht K-sero- typisier- bar		Qu	1,723	1,224	1,190	1,712	1,615	1,151	1,125	0,918	0,716
		2. 5.80	E	0,158	0,126	0,079	0,238	0,137	0,069	0,204	0,104	0,067
			Qu	1,904	1,658	1,254	1,345	1,756	1,302	2,125	1,425	0,905
12	V. 1721	24. 1.80	E	0,249	0,176	0,153	0,328	0,179	0,140	0,242	0,171	0,170
	K 55		Qu	1,717	1,344	1,013	1,512	1,234	1,061	1,147	1,030	0,994

Antikörper - Titer gegen K. pneumoniae K - Antigen im ELISA

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M			E: Extinktion 510 nm Qu: E _{Pat.S.} /E _{Neg.S.}	
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung				
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴		
13	V.1472 K 16	25. 1.80	E	0,240	0,162	0,141	0,687	0,271	0,193	0,363	0,231	0,145	
			Qu	1,920	1,125	1,156	2,887	1,604	1,222	2,028	1,833	1,250	
	11. 2.80	E	0,273	0,162	0,143	0,683	0,311	0,197	0,355	0,212	0,133		
		Qu	2,184	1,125	1,172	2,870	1,840	1,247	1,983	1,683	1,147		
13	V.2662 nicht K-sero- typisier- bar	25. 4.80	E	0,216	0,151	0,140	0,548	0,236	0,181	0,407	0,228	0,146	
			Qu	1,728	1,049	1,148	2,303	1,396	1,146	2,274	1,810	1,259	
		16. 5.80	E	0,243	0,158	0,142	0,611	0,269	0,193	0,347	0,208	0,141	
			Qu	1,944	1,097	1,164	2,567	1,592	1,222	1,939	1,651	1,216	
		25. 1.80	E	0,206	0,142	0,127	0,367	0,179	0,140	0,396	0,233	0,141	
			Qu	1,079	1,014	0,907	1,731	1,178	1,029	2,250	1,629	1,093	
		11. 2.80	E	0,381	0,171	0,143	0,656	0,263	0,150	0,632	0,252	0,148	
			Qu	1,995	1,221	1,021	3,094	1,730	1,103	3,591	1,762	1,147	
	25. 4.80	E	0,280	0,169	0,137	0,592	0,250	0,150	0,619	0,296	0,151		
		Qu	1,466	1,207	0,979	2,792	1,645	1,103	3,517	2,070	1,171		
	16. 5.80	E	0,554	0,274	0,166	0,857	0,354	0,170	0,715	0,286	0,153		
		Qu	2,901	1,957	1,193	4,042	2,329	1,250	4,063	2,000	1,186		

E: Extinktion 510 nm Qu: E _{Pat.S.} /E _{Neg.S.}													
Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M				
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung				
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻⁴	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴		
14	Str. 297	30. 1.80	E	0,430	0,199	0,192	1,004	0,351	0,249	0,442	0,216	0,219	
	K 28		Qu	2,087	1,010	0,955	3,450	1,782	1,215	1,503	1,293	1,058	
		13. 2.80	E	0,571	0,250	0,181	0,598	0,265	0,212	0,426	0,230	0,171	
			Qu	2,772	1,269	0,900	2,055	1,345	1,034	1,449	1,377	0,826	
15	V. 2688	8. 2.80	E	0,254	0,189	0,151	0,474	0,227	0,161	0,304	0,202	0,136	
	K 2		Qu	1,443	1,011	1,063	2,268	1,446	1,158	1,376	1,031	1,000	
16	V. 2760	11. 2.80	E	0,276	0,175	0,156	1,012	0,403	0,207	0,416	0,193	0,151	
	K 79		Qu	1,633	1,115	0,857	4,985	2,155	1,113	2,391	1,287	1,063	
17	Str. 339	11. 2.80	E	0,264	0,138	0,124	0,435	0,189	0,134	0,306	0,172	0,170	
	K 28		Qu	1,985	1,062	1,069	1,642	1,174	0,971	2,026	1,344	1,417	
		18. 2.80	E	0,429	0,210	0,189	0,865	0,257	0,153	0,409	0,220	0,142	
			Qu	3,226	1,615	1,629	3,264	1,596	1,109	2,709	1,719	1,183	
		25. 2.80	E	0,371	0,198	0,155	0,730	0,277	0,177	0,392	0,202	0,155	
			Qu	2,789	1,523	1,336	2,755	1,720	1,283	2,596	1,578	1,292	
		8. 5.80	E	0,518	0,209	0,168	1,319	0,344	0,183	0,521	0,223	0,164	
			Qu	3,895	1,608	1,448	4,977	2,137	1,326	3,450	1,742	1,367	
		18.11.80	E	0,242	0,165	0,162	0,567	0,221	0,183	0,382	0,196	0,169	
			Qu	1,820	1,269	1,397	2,140	1,373	1,326	2,530	1,531	1,408	

E: Extinktion 510 nm
 Qu: Epat.S./E_{Neg.S.}

Patient Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
18 Nr. 4153 K 13	18. 2.80 E	1,579	0,360	0,217	1,848	1,685	0,467	1,073	0,341	0,205
	Qu	8,582	2,081	1,240	7,304	9,258	2,865	4,527	1,960	1,250
	24. 7.80 E	0,360	0,187	0,157	1,405	0,488	0,209	0,324	0,222	0,178
	Qu	1,957	1,031	0,897	5,553	2,681	1,282	1,367	1,276	1,085
19 V/1855 K 15	25.11.80 E	0,315	0,211	0,206	1,267	0,472	0,210	0,341	0,253	0,181
	Qu	1,712	1,220	1,177	5,008	2,593	1,288	1,439	1,454	1,104
	20. 2.80 E	0,288	0,163	0,147	0,581	0,215	0,146	0,501	0,184	0,107
	Qu	2,323	1,393	1,400	2,060	1,311	1,140	3,684	1,786	0,892
20 Str. 325 K 35	16. 6.80 E	0,277	0,148	0,130	0,753	0,322	0,199	0,504	0,196	0,117
	Qu	2,234	1,265	1,238	2,670	1,963	1,555	3,706	1,903	0,975
	25. 2.80 E	0,341	0,175	0,130	0,464	0,232	0,140	0,401	0,179	0,099.
	Qu	2,067	1,287	0,963	1,617	1,247	0,864	2,709	1,570	0,943
3. 3.80 E	E	0,275	0,153	0,155	0,444	0,215	0,152	0,350	0,158	0,100
	Qu	1,667	1,125	1,148	1,547	1,156	0,938	2,365	1,386	0,952
	10. 3.80 E	0,368	0,192	0,153	0,509	0,254	0,172	0,389	0,182	0,119
	Qu	2,230	1,412	1,133	1,774	1,366	1,062	2,628	1,596	1,133

Tab. 4-11 Antikörper - Titer gegen K. pneumoniae K - Antigen im ELISA

E: Extinktion 510 nm
 Qu: E_{Pat.S.}/E_{Neg.S.}

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
20	Str.325	12. 5.80	E 0,291	0,186	0,166	0,503	0,245	0,183	0,301	0,153	0,119
	K 35		Qu 1,764	1,368	1,230	1,753	1,317	1,130	2,034	1,342	1,133
		10.12.80	E 0,212	0,160	0,165	0,329	0,206	0,178	0,248	0,153	0,137
			Qu 1,285	1,176	1,222	1,146	1,108	1,099	1,676	1,342	1,305
21	V/1988	26. 2.80	E 0,331	0,197	0,156	0,464	0,211	0,163	0,354	0,180	0,135
	K 30		Qu 1,947	1,094	0,957	1,700	1,088	0,994	1,967	1,125	0,877
22	V.2914	28. 2.80	E 0,343	0,212	0,162	0,560	0,241	0,172	0,199	0,143	0,149
	K 74		Qu 1,960	1,342	1,095	1,244	1,039	0,804	1,185	1,051	1,129
		6. 3.80	E 0,329	0,181	0,145	0,412	0,223	0,168	0,245	0,175	0,159
			Qu 1,880	1,146	0,980	0,916	0,961	0,785	1,458	1,287	1,205
		21. 3.80	E 0,312	0,173	0,153	0,707	0,234	0,164	0,228	0,160	0,161
			Qu 1,783	1,095	1,034	1,571	1,009	0,766	1,357	1,176	1,220
		18. 4.80	E 0,364	0,208	0,191	0,623	0,281	0,211	0,244	0,170	0,150
			Qu 2,080	1,316	1,291	1,384	1,211	0,986	1,452	1,250	1,136
		29. 4.80	E 0,327	0,197	0,163	0,567	0,264	0,209	0,242	0,163	0,148
			Qu 1,869	1,247	1,101	1,260	1,138	0,977	1,440	1,199	1,121

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M			E: Extinktion 510 nm Qu: E _{Pat.S} /E _{Neg.S.}
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung			
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	
23	V.1879 K 7	1. 3.80	E 0,280	0,164	0,134	0,455	0,189	0,149	0,303	0,186	0,162	
			Qu 1,697	1,051	0,876	2,230	1,219	1,173	1,546	1,177	0,976	
24	V.4256 K 53	3. 3.80	E 0,239	0,150	0,117	0,345	0,159	0,117	0,269	0,137	0,113	
			Qu 2,008	1,327	0,959	1,691	1,420	1,073	1,770	1,181	0,958	
		17. 5.80	E 0,238	0,157	0,129	0,473	0,223	0,143	0,304	0,145	0,128	
			Qu 2,000	1,389	1,057	2,319	1,991	1,321	2,000	1,250	1,085	
		1. 9.80	E 0,206	0,142	0,124	0,325	0,184	0,123	0,288	0,161	0,164	
			Qu 1,731	1,257	1,016	1,593	1,643	1,128	1,895	1,388	1,390	
25	V.5420 K 2	10. 3.80	E 0,255	0,190	0,191	0,375	0,226	0,182	0,493	0,211	0,170	
			Qu 1,848	1,364	1,308	2,005	1,537	1,083	3,160	1,623	1,349	
26	V/3999 K 9	18. 3.80	E 0,681	0,237	0,168	0,473	0,225	0,179	0,642	0,238	0,218	
			Qu 4,078	1,491	1,135	1,506	1,103	1,011	2,905	1,417	1,453	

Tab. 4-14

Antikörper - Titer gegen K. pneumoniae K - Antigen. im ELISA

Patient Antigen		Datum der Serumprobe	Ig A		Ig G		Ig M				
			Serumverdünnung		Serumverdünnung		Serumverdünnung				
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴		
29	V.6034 K 2	21. 3.80 E	1,548	0,468	0,179	1,464	0,339	0,179	0,813	0,217	0,125
		Qu	9,797	3,205	1,035	6,449	2,080	0,962	4,988	1,607	0,868
	13. 5.80 E	0,664	0,211	0,160	0,842	0,277	0,169	0,547	0,207	0,123	
		Qu	4,203	1,445	0,925	3,709	1,699	0,909	3,356	1,533	0,854
30	V.8060 K 20	7.10.80 E	0,516	0,193	0,160	0,540	0,208	0,164	0,400	0,146	0,137
		Qu	3,266	1,322	0,925	2,379	1,276	0,882	2,454	1,081	0,951
	10. 4.80 E	0,638	0,203	0,137	0,895	0,307	0,158	0,454	0,196	0,135	
		Qu	4,013	1,504	0,913	2,915	1,566	1,019	3,110	1,410	1,134
31	V.8082 K 36	11. 4.80 E	0,282	0,164	0,139	0,545	0,197	0,142	0,443	0,227	0,160
		Qu	1,720	1,206	1,015	1,899	1,187	1,044	2,237	1,493	1,212
	29. 4.80 E	0,292	0,170	0,146	0,508	0,245	0,145	0,392	0,263	0,186	
		Qu	1,780	1,250	1,066	1,770	1,476	1,066	1,970	1,730	1,409
32	V.7166 K 41	14. 4.80 E	0,202	0,129	0,116	0,688	0,254	0,135	0,385	0,197	0,152
		Qu	1,656	1,112	0,847	2,577	1,558	1,031	2,213	1,492	1,152
	30. 4.80 E	0,262	0,162	0,127	0,525	0,216	0,161	0,334	0,194	0,165	
		Qu	2,148	1,397	0,927	1,966	1,325	1,229	1,920	1,470	1,250

Tab. 4-15 Antikörper - Titer gegen K. pneumoniae K - Antigen im ELISA

Patient Antigen		Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M			E: Extinktion 510 nm Qu: E _{Pat.S.} /E _{Neg.S.}	
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung				
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴		
32	V.7166	9. 5.80	E	0,201	0,147	0,128	0,412	0,191	0,153	0,299	0,179	0,156	
	K 41		Qu	1,648	1,267	0,934	1,543	1,172	1,168	1,718	1,356	1,182	
		24. 5.80	E	0,231	0,153	0,137	0,547	0,346	0,209	0,273	0,193	0,168	
			Qu	1,893	1,319	1,000	2,049	2,123	1,595	1,569	1,462	1,273	
33	V.8811	15. 4.80	E	0,454	0,195	0,128	1,677	0,762	0,273	0,530	0,208	0,130	
	K 63		Qu	2,873	1,598	1,153	6,165	4,405	1,706	3,193	1,705	1,066	
		30. 4.80	E	0,692	0,247	0,164	1,575	0,613	0,273	0,356	0,176	0,129	
			Qu	4,380	2,025	1,477	5,790	3,543	1,706	2,145	1,443	1,057	
34	V.8068	16. 4.80	E	0,263	0,200	0,187	0,486	0,248	0,197	0,628	0,274	0,164	
	K 35		Qu	1,264	1,015	0,935	1,477	1,132	0,970	3,376	1,916	1,206	
		30. 4.80	E	0,257	0,207	0,185	0,486	0,252	0,195	0,694	0,271	0,141	
			Qu	1,236	1,051	0,925	1,477	1,151	0,961	3,731	1,895	1,037	

E: Extinktion 510 nm
 Qu: E_{Pat.S.}/E_{Neg.S.}

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
35	V.8825 K 10	21. 4.80	E	0,386	0,239	0,203	0,874	0,320	0,205	0,368	0,264
			Qu	1,883	1,189	0,995	3,895	1,711	1,079	2,629	2,095
		29. 4.80	E	0,416	0,281	0,247	0,995	0,422	0,243	0,322	0,233
			Qu	2,029	1,398	1,211	3,996	2,257	1,279	2,300	1,849
		21. 5.80	E	0,396	0,328	0,260	0,971	0,399	0,460	0,284	0,210
			Qu	1,932	1,632	1,275	4,063	2,134	2,421	2,029	1,667
36	Str.452 K 74	24. 6.80	E	0,431	0,319	0,301	0,804	0,383	0,292	0,320	0,185
			Qu	2,102	1,587	1,475	3,364	2,048	1,537	2,286	1,468
		15. 7.80	E	0,330	0,324	0,309	0,751	0,408	0,308	0,266	0,211
			Qu	1,610	1,612	1,515	3,142	2,182	1,621	1,900	1,675
		28. 8.80	E	0,384	0,289	0,275	0,915	0,400	0,238	0,283	0,234
			Qu	1,873	1,438	1,348	3,828	2,139	1,253	2,021	1,857
36	Str.452 K 74	14. 5.80	E	1,199	0,169	0,153	1,572	0,430	0,168	0,230	0,119
			Qu	6,212	1,374	1,125	7,522	3,258	1,902	1,456	0,815
		20. 5.80	E	0,994	0,198	0,139	1,549	0,476	0,199	0,305	0,141
			Qu	5,150	1,610	1,022	7,411	3,606	1,543	1,930	0,966
		2. 6.80	E	0,856	0,168	0,150	1,506	0,405	0,233	0,250	0,128
			Qu	4,435	1,366	1,103	7,206	3,068	1,806	1,582	0,877

E: Extinktion 510 nm
 Qu: E_{Pat.S.} E_{Neg.S.}

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
			Serumverdünnung 10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	Serumverdünnung 10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	Serumverdünnung 10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
36	Str. 452 K 74	15. 9.80	E 0,907	0,176	0,134	1,523	0,456	0,201	0,233	0,128	0,143
			Qu 4,699	1,431	1,022	7,287	3,455	1,558	1,475	0,877	1,144
		19. 1.81	E 0,844	0,185	0,150	1,607	0,441	0,205	0,244	0,132	0,145
			Qu 4,373	1,504	0,985	7,689	3,341	1,589	1,544	0,904	1,160
37	V/6422 K 47	22. 5.80	E 0,417	0,239	0,189	0,756	0,364	0,229	0,277	0,169	0,146
			Qu 2,623	1,615	1,235	3,295	1,867	1,193	1,659	1,243	1,168
38	V/7927 K 14	25. 6.80	E 0,485	0,249	0,189	0,873	0,179	0,179	0,350	0,198	0,170
			Qu 2,462	1,376	1,044	2,686	1,197	1,000	1,483	1,076	0,983
		18.11.80	E 0,496	0,200	0,168	1,217	0,316	0,203	0,319	0,198	0,175
			Qu 2,518	1,105	0,928	3,745	1,356	1,134	1,352	1,076	1,012
39	V/8080	27. 6.80	E 0,267	0,203	0,150	0,879	0,282	0,183	0,325	0,177	0,154
			Qu 2,054	1,460	1,136	4,439	1,659	1,070	2,031	1,311	1,158

E: Extinktion 510 nm
 Qu: Epat.S./E_{Neg.S.}

Patient	Antigen	Datum der Serumprobe	Ig A			Ig G			Ig M		
			Serumverdünnung			Serumverdünnung			Serumverdünnung		
			10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
40	V/8112 K 64	1. 7.80	E 0,303	0,189	0,163	0,328	0,211	0,186	0,281	0,168	0,133
			Qu 1,762	1,160	1,072	1,159	1,066	1,039	1,519	1,183	1,090
		18. 7.80	E 0,288	0,192	0,165	0,338	0,214	0,189	0,265	0,167	0,139
			Qu 1,674	1,178	1,086	1,194	1,081	1,056	1,432	1,176	1,139
41	V/8374 K 45	8. 9.80	E 0,275	0,197	0,177	0,327	0,218	0,200	0,292	0,181	0,145
			Qu 1,599	1,209	1,164	1,155	1,101	1,117	1,578	1,275	1,189
		10. 7.80	E 0,245	0,169	0,161	0,344	0,204	0,180	0,248	0,166	0,160
			Qu 1,310	1,207	1,201	1,360	1,090	1,053	1,450	1,135	0,970
42	V/8856 nicht K-sero- typisier- bar	17. 7.80	E 0,315	0,173	0,139	0,687	0,257	0,185	0,330	0,180	0,163
			Qu 1,684	1,236	1,037	2,715	1,374	1,082	1,930	1,161	0,988
		1. 8.80	E 0,355	0,180	0,146	0,955	0,311	0,207	0,398	0,203	0,171
			Qu 1,898	1,286	1,090	3,775	1,663	1,211	2,327	1,310	1,036
42	V/8856 nicht K-sero- typisier- bar	15. 7.80	E 0,350	0,225	0,165	0,478	0,219	0,193	0,411	0,204	0,185
			Qu 1,989	1,160	1,130	2,378	1,431	1,388	1,930	1,115	1,468

Tab. 5 Zusammenhang zwischen dem Zeitpunkt der Gewinnung der Serumproben
und den Quotienten im ELISA

Zeit nach Isolierung von K. pneumoniae	Ig A			Ig G			Ig M		
	Median	Range	$\bar{x}$	Median	Range	$\bar{x}$	Median	Range	$\bar{x}$
bis 7 Tage	1,9	1,2-5,6	2,4	2,2	1,2-6,2	2,7	2,0	1,1-4,9	2,5
8 - 14 Tage	2,5	1,3-8,6	3,6	3,1	1,5-7,3	3,6	2,7	1,5-6,6	3,2
15 - 28 Tage	2,2	1,2-8,3	3,3	2,7	1,5-7,5	3,3	2,3	1,2-6,1	3,0

Tab. 6-1 Antikörper - Titer gegen homologes K - Antigen in der CIE

Patient	K - Antigen	Datum der Serumprobe	Titer in der CIE
1	K 10 (Str.125)	19.12.79	1: 2
		27.12.79	1: 2
		7. 1.80	1: 2
		11. 1.80	1: 2
		29. 5.80	1: 4
		2. 9.80	1: 8
2	K 31 (Str.210)	19.12.79	Ø
		28.12.79	1: 2
		3. 1.80	1: 2
		10. 1.80	1: 2
3	K 2 (Str.255)	19.12.79	Ø
		27.12.79	Ø
		4. 1.80	Ø
		10. 1.80	1: 4
		20. 2.80	1: 4
		14. 5.80	1:16
		26. 6.80	1:16
		1. 7.80	1:16
		9. 7.80	1: 8
4	K 28 (Str.240)	18. 8.80	1: 8
		18.11.80	1: 2
		27.12.79	konz.
		3. 1.80	1: 8
		10. 1.80	1: 4
		17. 1.80	1: 4
5	K 55 (V. 388)	27. 8.80	Ø
		2. 1.80	Ø
		9. 5.80	konz.
6	K 35 (V. 094)	4. 1.80	1: 2
		9. 1.80	1: 2
		11. 1.80	1: 2
		24. 6.80	1: 8
		27. 8.80	1: 4

Tab.6-2 Antikörper - Titer gegen homologes K - Antigen in der CIE

Patient	K - Antigen	Datum der Serumprobe	Titer in der CIE
7	nicht K-sero- typisierbar (V. 370)	14. 1.80	1: 8
8	K 68 (V.1181)	16. 1.80	Ø
9	K 74 (V. 745)	16. 1.80	Ø
10	K 2 (V.1189)	23. 1.80 9. 5.80	Ø Ø
11	K 55 (V.1000)	24. 1.80 2. 5.80	Ø Ø
	nicht K-sero- typisierbar (V.3458)	24. 1.80 2. 5.80	Ø Ø
12	K 55 (V.1721)	24. 1.80	Ø
13	nicht K-sero- typisierbar (V.2286)	25. 1.80 11. 2.80 25. 4.80 16. 5.80	Ø Ø Ø Ø
14	K 28 (Str.297)	30. 1.80 13. 2.80	Ø Ø
15	K 2 (V.2688)	8. 2.80	Ø
16	K 79 (V.4379)	11. 2.80	Ø
17	K 28 (Str.339)	11. 2.80 18. 2.80 25. 2.80 8. 5.80 18.11.80	Ø Ø Ø Ø Ø
18	K 13 (Nr.4153)	18. 2.80 24. 7.80 25.11.80	1:32 1: 2 1: 2

Tab. 6-3 Antikörper - Titer gegen homologes K - Antigen in der CIE

Patient	K - Antigen	Datum der Serumprobe	Titer in der CIE
19	K 15 (V/1855)	20. 2.80	konz.
		16. 6.80	Ø
20	K 35 (Str.338) 38	25. 2.80	1: 4
		3. 3.80	1: 4
		10. 3.80	1: 8
		12. 5.80	1: 4
21	K 30 (V/1988)	26. 2.80	Ø
22	K 74 (V.2914)	28. 2.80	Ø
		6. 3.80	Ø
		21. 3.80	Ø
		18. 4.80	Ø
		29. 4.80	Ø
23	K 7 (V.1879)	1. 3.80	Ø
24	K 53 (V.4256)	3. 3.80	Ø
		17. 5.80	Ø
		1. 9.80	Ø
25	K 2 (V.5420)	10. 3.80	Ø
26	K 9 (V/3999)	18. 3.80	Ø
27	K 3 (V.2276)	21. 3.80	Ø
		14. 4.80	Ø
		29. 4.80	Ø
28	nicht K-sero- typisierbar (V.6601)	21. 3.80	Ø
29	K 2 (V.6034)	21. 3.80	1: 2
		13. 5.80	konz.
		7.10.80	Ø
30	K 20 (V.8060)	10. 4.80	Ø

ab. 6-4 Antikörper - Titer gegen homologes K - Antigen in der CIE

Patient	K - Antigen	Datum der Serumprobe	Titer in der CIE
31	K 36 (V.8082)	11. 4.80	Ø
		29. 4.80	Ø
32	K 41 (V.7166)	14. 4.80	Ø
		30. 4.80	Ø
		9. 5.80	Ø
		24. 5.80	Ø
33	K 63 (V.8612)	15. 4.80	konz.
		30. 4.80	konz.
34	K 35 (V.8068)	16. 4.80	Ø
		30. 4.80	Ø
35	K 10 (V.8625)	21. 4.80	Ø
		29. 4.80	Ø
		21. 5.80	Ø
		24. 6.80	Ø
		15. 7.80	Ø
		28. 8.80	Ø
36	K 74 (Str.452)	14. 5.80	1: 4
		20. 5.80	1: 4
		2. 6.80	1: 4
		15. 9.80	1: 4
37	K 47 (V/6422)	22. 5.80	Ø
38	K 14 (V/7927)	25. 6.80	Ø
		18.11.80	Ø
39	K 71 (V/8080)	27. 6.80	Ø
40	K 64 (V/8112)	1. 7.80	Ø
		18. 7.80	Ø
		8. 9.80	Ø
41	K 45 (V/8374)	10. 7.80	Ø
		17. 7.80	Ø
		1. 8.80	1: 2
42	nicht K-sero- typisierbar (V/8856)	15. 7.80	Ø

Tab. 7-1 Antikörper - Titer gegen *K. pneumoniae* und *E. coli* in
der passiven Hämagglutination mit der CrCl_3 - Methode
und dem NETER - Antigen

Patient	3		4		6	
Patienten- Isolierung	Str.255 (K 2)		Str.215 (K 28) Str.240 (K 28)		V. 094 (K 35)	
Datum der Serumprobe	14. 5.80		3. 1.80		24. 6.80	
	CrCl_3	NETER-Ag	CrCl_3	NETER-Ag	CrCl_3	NETER-Ag
V.6034 (K 2)	1: 640	< 1:40	< 1:40	< 1:40		
Str.255 (K 2)	1: 640	1: 640				
V.2276 (K 3)	1: 40	1: 320	< 1:40	1: 1280		
V.1879 (K 7)	< 1:40	< 1:40	< 1:40	< 1:40		
Nr.4153 (K 13)	1: 80	1: 1280	1: 80	1: 1280		
Str.215 (K 28)	1: 640		1:1280			
Str.240 (K 28)		1: 320		1: 320		
V. 094 (K 35)					1: 320	< 1:40
V. 485 (K 55)	< 1:40	1: 640	< 1:40	1: 640		
V.2914 (K 74)	< 1:40	1: 320	< 1:40	1: 640		
Str.452 (K 74)						
<i>E. coli</i> O 1		1: 640		1: 1280		
<i>E. coli</i> O 2		1: 640		1: 1280		
<i>E. coli</i> O 4		1: 5120		1: 1280		
<i>E. coli</i> O 6		1: 640		1: 1280		
<i>E. coli</i> O 7		1: 1280		1: 2560		
<i>E. coli</i> O 14		1: 320		1: 640		
<i>E. coli</i> O 55		1: 320		1: 640		
<i>E. coli</i> O 75		1: 320		1: 1280		

Tab. 7-2 Antikörper - Titer gegen *K. pneumoniae* und *E. coli* in
der passiven Hämagglutination mit der CrCl_3 - Methode
und dem NETER - Antigen

Patient	11		23		27	
Patienten- Isolierung	V. 485 (K 55)		V.1879 (K 7)		V.2276 (K 3)	
Datum der Serumprobe	24. 1.80		1. 3.80		21. 3.80	
	CrCl_3	NETER-Ag	CrCl_3	NETER-Ag	CrCl_3	NETER-Ag
V.6034 (K 2)						
Str.255 (K 2)						
V.2276 (K 3)					1: 160	
V.1879 (K 7)			<1:40			
Nr.4153 (K 13)						
Str.215 (K 28)						
Str.240 (K 28)						
V. 094 (K 35)						
V. 485 (K 55)	<1:40					
V.2914 (K 74)						
Str.452 (K 74)						
<i>E. coli</i> O 1						
<i>E. coli</i> O 2						
<i>E. coli</i> O 4						
<i>E. coli</i> O 6						
<i>E. coli</i> O 7						
<i>E. coli</i> O 14						
<i>E. coli</i> O 55						
<i>E. coli</i> O 75						

Tab. 7-3 Antikörper - Titer gegen *K. pneumoniae* und *E. coli* in
der passiven Hämagglutination mit der CrCl_3 - Methode
und dem NETER - Antigen

Patient	18					
Patienten- Isolierung	Nr.4153					
Datum der Serumprobe	18. 2.80		24. 7.80		18.11.80	
	CrCl_3	NETER-Ag	CrCl_3	NETER-Ag	CrCl_3	NETER-Ag
V.6034 (K 2)	< 1:40	< 1:40				
Str.255 (K 2)						
V.2276 (K 3)	1:2560	1:20480				
V.1879 (K 7)	< 1:40	< 1:40				
Nr.4153 (K 13)	1:5120	1:40960		1: 5120		1: 2560
Str.215 (K 28)	1:2560	1:20480				
Str.240 (K 28)						
V. 094 (K 35)						
V. 485 (K 55)	<1:40	1:20480				
V.2914 (K 74)	1: 640	1:20480				
Str.452 (K 74)						
<i>E. coli</i> O 1		1:81920		1:40960		1:10240
<i>E. coli</i> O 2		1:10240		1:10240		1:10240
<i>E. coli</i> O 4		1:10240		1: 5120		1: 5120
<i>E. coli</i> O 6		1:20480		1: 5120		1: 5120
<i>E. coli</i> O 7		1:20480		1: 5120		1: 5120
<i>E. coli</i> O 14		1:10240		1: 2560		1: 2560
<i>E. coli</i> O 55		1:10240		1:10240		1:10240
<i>E. coli</i> O 75		1:20480		1:10240		1: 5120

Tab. 7-4 Antikörper - Titer gegen *K. pneumoniae* und *E. coli* in der passiven Hämagglutination mit der CrCl_3 - Methode und dem NETER - Antigen

Patient	29	36		
Patienten- Isolierung	V.6034 (K 2)	Str.452 (K 74)		
Datum der Serumprobe	21. 3.80	14. 5.80		
	CrCl ₃	NETER-Ag	CrCl ₃	NETER-Ag
V.6034 (K 2)	1: 320	1: 1280	< 1:40	< 1:40
Str.255 (K 2)				
V.2276 (K 3)	1: 640	1: 5120	1: 40	1: 320
V.1879 (K 7)	< 1:40	< 1:40	< 1:40	< 1:40
Nr.4153 (K 13)	1: 320	1: 2560	< 1:40	1: 320
Str.215 (K 28)	1: 640		< 1:40	
Str.240 (K 28)		1: 2560		1: 80
V. 094 (K 35)				
V. 485 (K 55)	1: 160	1: 5120	< 1:40	1: 320
V.2914 (K 74)	1: 160	1: 2560	1: 640	1: 160
Str.452 (K 74)			1: 320	
E. coli O 1		1: 5120		1: 160
E. coli O 2		1:10240		1: 160
E. coli O 4		1:10240		1: 320
E. coli O 6		1:10240		1: 160
E. coli O 7		1:10240		1: 640
E. coli O 14		1: 2560		1: 160
E. coli O 55		1: 2560		1: 160
E. coli O 75		1:10240		1: 160

Tab. 8-1 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 1 K.pneumoniae Str.162 (K 10) RF im Latextest: 1: 80

Datum der Serumproben

		19.12.79			27.12.79		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	1,062	0,319	0,139	0,994	0,281	0,146
	Qu ₁	5,649	2,085	0,827	5,287	1,873	0,869
nach A.	E ₂	0,812	0,268	0,150	0,706	0,253	0,149
	Qu ₂	4,319	1,752	0,893	3,755	1,654	0,887
E ₁ - E ₂		0,250	0,051	-0,011	0,288	0,028	-0,003
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,235	0,160	-0,079	0,290	0,100	-0,021
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	1,606	0,733	0,214	1,601	0,833	0,227
	Qu ₁	5,970	4,141	1,354	5,952	4,706	1,437
nach A.	E ₂	1,580	0,762	0,218	1,560	0,738	0,248
	Qu ₂	5,874	4,305	1,380	5,799	4,169	1,570
E ₁ - E ₂		0,026	-0,029	-0,004	0,041	0,095	-0,021
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,016	-0,040	-0,019	0,026	0,114	-0,093
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	0,731	0,204	0,116	0,692	0,199	0,118
	Qu ₁	3,481	1,351	0,906	3,295	1,318	0,922
nach A.	E ₂	0,623	0,249	0,128	0,543	0,217	0,130
	Qu ₂	2,967	1,649	1,000	2,586	1,437	1,016
E ₁ - E ₂		0,108	-0,045	-0,012	0,149	-0,018	-0,012
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,148	-0,221	-0,103	0,215	-0,090	-0,102

Tab. 8-2 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 1 K.pneumoniae Str.162 (K 10) RF im Latextest: 1: 80

Datum der Serumproben

		7. 1.80			11. 1.80		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	0,973	0,269	0,136	0,967	0,269	0,144
	Qu ₁	5,176	1,758	0,810	5,144	1,758	0,857
nach A.	E ₂	0,749	0,244	0,148	0,762	0,332	0,174
	Qu ₂	3,984	1,595	0,881	4,053	2,170	1,036
E ₁ - E ₂		0,224	0,025	0,013	0,205	-0,063	-0,030
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,230	0,093	0,096	0,212	-0,234	-0,208
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	1,674	0,843	0,258	1,707	0,961	0,285
	Qu ₁	6,223	4,763	1,633	6,346	5,429	1,804
nach A.	E ₂	1,639	0,815	0,250	1,663	0,816	0,245
	Qu ₂	6,093	4,605	1,582	6,182	4,610	1,551
E ₁ - E ₂		0,035	0,028	0,008	0,044	0,145	0,040
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,021	0,033	0,031	0,026	0,158	0,140
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	0,665	0,189	0,118	0,698	0,249	0,140
	Qu ₁	3,167	1,252	0,922	3,324	1,649	1,094
nach A.	E ₂	0,572	0,237	0,137	0,568	0,240	0,149
	Qu ₂	2,724	1,570	1,070	2,705	1,589	1,164
E ₁ - E ₂		0,093	-0,048	-0,019	0,130	0,009	-0,009
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,140	-0,254	-0,161	0,186	0,036	-0,064

Tab. 8-3 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 1 K.pneumoniae Str.162 (K 10) RF im Latextest: 1: 80

Datum der Serumproben

		17. 1.80			29. 5.80		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	0,873	0,282	0,156	1,046	0,272	0,153
	Qu ₁	4,644	1,843	0,929	5,564	1,778	0,911
nach A.	E ₂	0,800	0,278	0,155	0,656	0,228	0,149
	Qu ₂	4,255	1,817	0,923	3,490	1,490	0,877
E ₁ - E ₂		0,073	0,004	0,001	0,390	0,044	0,004
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,084	0,014	0,006	0,373	0,162	0,026
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	1,581	0,844	0,255	1,793	1,017	0,380
	Qu ₁	5,877	4,768	1,614	6,665	5,746	2,405
nach A.	E ₂	1,636	0,725	0,214	1,740	0,817	0,274
	Qu ₂	6,082	4,096	1,354	6,468	4,616	1,734
E ₁ - E ₂		-0,055	0,119	0,041	0,053	0,200	0,106
(E ₁ -E ₂)/E ₁		-0,035	0,141	0,161	0,030	0,197	0,279
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	0,641	0,221	0,139	0,611	0,239	0,144
	Qu ₁	3,052	1,464	1,086	2,910	1,583	1,125
nach A.	E ₂	0,608	0,237	0,131	0,448	0,218	0,128
	Qu ₂	2,895	1,570	1,023	2,133	1,444	1,000
E ₁ - E ₂		0,033	0,017	0,008	0,163	0,021	0,016
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,051	0,077	0,058	0,267	0,088	0,111

Tab. 8-4 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 1 K.pneumoniae Str.162 (K 10) RF im Latextest: 1: 80

Datum der Serumprobe

2. 9.80

Serumverdünnung

10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}

Ig A ELISA

vor A.	E_1	1,186	0,274	0,173
	Qu_1	6,309	1,791	1,030
nach A.	E_2	0,714	0,217	0,132
	Qu_2	3,798	1,418	0,827
$E_1 - E_2$		0,472	0,057	0,034
$(E_1 - E_2) / E_1$		0,398	0,208	0,197

Ig G ELISA

vor A.	E_1	1,803	1,052	0,292
	Qu_1	6,703	5,944	1,848
nach A.	E_2	1,809	0,913	0,261
	Qu_2	6,725	5,159	1,652
$E_1 - E_2$		-0,006	0,139	0,031
$(E_1 - E_2) / E_1$		-0,003	0,132	0,106

Ig M ELISA

vor A.	E_1	0,748	0,232	0,165
	Qu_1	3,562	1,536	1,289
nach A.	E_2	0,529	0,234	0,124
	Qu_2	2,519	1,550	0,969
$E_1 - E_2$		0,219	-0,002	0,041
$(E_1 - E_2) / E_1$		0,293	-0,009	0,248

Tab. 9-1 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 4 K.pneumoniae Str.215 (K 28) RF im Latextest: 1:100

Datum der Serumproben

		27.12.79			3. 1.80		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	0,914	0,220	0,144	1,386	0,400	0,169
	Qu ₁	5,642	1,594	1,051	8,556	2,899	1,234
nach A.	E ₂	0,825	0,224	0,155	1,288	0,312	0,159
	Qu ₂	5,093	1,623	1,131	7,951	2,261	1,161
E ₁ - E ₂		0,089	-0,004	-0,011	0,098	0,088	0,010
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,097	-0,018	-0,076	0,071	0,220	0,059
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	1,351	0,455	0,171	1,507	0,880	0,232
	Qu ₁	4,724	2,556	1,148	5,269	4,944	1,557
nach A.	E ₂	1,360	0,443	0,184	1,531	0,863	0,251
	Qu ₂	4,755	2,489	1,235	5,353	4,848	1,685
E ₁ - E ₂		-0,009	0,012	-0,013	-0,024	0,017	-0,019
(E ₁ -E ₂)/E ₁		-0,007	0,026	-0,076	-0,016	0,019	-0,082
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	0,880	0,383	0,167	1,061	0,528	0,199
	Qu ₁	4,994	2,736	1,246	5,961	3,771	1,485
nach A.	E ₂	0,873	0,371	0,171	0,953	0,417	0,174
	Qu ₂	4,904	2,650	1,276	5,354	2,979	1,299
E ₁ - E ₂		0,007	0,012	-0,004	0,108	0,111	0,025
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,008	0,031	-0,024	0,102	0,210	0,126

Tab. 9-2 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 4 K.pneumoniae Str.215 (K 28) RF im Latextest: 1:100

Datum der Serumproben

		10. 1.80			17. 1.80		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	1,347	0,397	0,187	1,185	0,313	0,165
	Qu ₁	8,315	2,877	1,365	7,315	2,268	1,204
nach A.	E ₂	1,113	0,317	0,166	0,872	0,266	0,158
	Qu ₂	6,870	2,297	1,212	5,383	1,928	1,153
E ₁ - E ₂		0,234	0,080	0,021	0,313	0,047	0,007
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,174	0,202	0,112	0,264	0,150	0,042
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	1,573	0,997	0,262	1,528	0,820	0,250
	Qu ₁	5,500	5,601	1,758	5,343	4,607	1,678
nach A.	E ₂	1,507	0,982	0,269	1,448	0,807	0,249
	Qu ₂	5,269	4,298	1,805	5,063	4,534	1,671
E ₁ - E ₂		0,066	0,015	-0,007	0,080	0,013	0,001
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,042	0,015	-0,027	0,052	0,016	0,004
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	1,090	0,585	0,241	1,063	0,558	0,216
	Qu ₁	6,124	4,179	1,799	5,972	3,986	1,612
nach A.	E ₂	1,042	0,516	0,194	0,940	0,471	0,190
	Qu ₂	5,854	3,686	1,448	5,281	3,364	1,418
E ₁ - E ₂		0,048	0,069	0,047	0,123	0,087	0,026
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,044	0,118	0,195	0,116	0,156	0,120

Tab. 9-3 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 4 K.pneumoniae Str.215 (K 28) RF im Latextest: 1: 100
Datum der Serumprobe

27. 8.80

Serumverdünnung

10^{-2} 10^{-3} 10^{-4}

Ig A ELISA

vor A.	E_1	0,605	0,231	0,179
	Qu_1	3,735	1,674	1,307
nach A.	E_2	0,552	0,211	0,153
	Qu_2	3,407	1,529	1,117
$E_1 - E_2$		0,053	0,020	0,026
$(E_1 - E_2) / E_1$		0,088	0,087	0,145

Ig G ELISA

vor A.	E_1	1,056	0,491	0,224
	Qu_1	3,692	2,758	1,369
nach A.	E_2	1,137	0,417	0,204
	Qu_2	3,976	2,343	1,369
$E_1 - E_2$		-0,081	0,074	0,020
$(E_1 - E_2) / E_1$		-0,077	0,151	0,089

Ig M ELISA

vor A.	E_1	0,859	0,507	0,230
	Qu_1	4,826	3,621	1,716
nach A.	E_2	0,842	0,418	0,188
	Qu_2	4,730	2,986	1,403
$E_1 - E_2$		0,017	0,089	0,042
$(E_1 - E_2) / E_1$		0,020	0,176	0,183

Tab. 10 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 19 K.pneumoniae V/1855 (K 15) RF im Latextest: 1:120

		Datum der Serumproben					
		20. 2.80			16. 6.80		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	0,288	0,163	0,147	0,277	0,148	0,130
	Qu ₁	2,323	1,393	1,400	2,234	1,265	1,238
nach A.	E ₂	0,272	0,160	0,125	0,314	0,182	0,185
	Qu ₂	2,194	1,368	1,190	2,532	1,556	1,762
E ₁ - E ₂		0,016	0,003	0,022	-0,037	-0,034	-0,055
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,056	0,018	0,150	-0,134	-0,230	-0,423
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	0,581	0,215	0,146	0,753	0,322	0,199
	Qu ₁	2,060	1,311	1,140	2,670	1,963	1,555
nach A.	E ₂	0,554	0,281	0,174	0,732	0,326	0,203
	Qu ₂	1,965	1,713	1,359	2,596	1,988	1,586
E ₁ - E ₂		0,027	-0,066	-0,028	0,021	-0,004	-0,004
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,046	-0,307	-0,192	0,028	-0,012	-0,020
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	0,501	0,184	0,107	0,504	0,196	0,117
	Qu ₁	3,684	1,786	0,892	3,706	1,903	0,975
nach A.	E ₂	0,341	0,189	0,115	0,424	0,192	0,148
	Qu ₂	2,507	1,835	0,958	3,118	1,864	1,233
E ₁ - E ₂		0,160	-0,005	-0,008	0,080	0,004	-0,031
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,319	-0,027	-0,075	0,159	0,020	-0,265

Tab. 11 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 33 K.pneumoniae V.8811 (K 63) RF im Latextest: 1:100

Datum der Serumproben

		15. 4.80			30. 4.80		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	0,454	0,195	0,128	0,692	0,247	0,164
	Qu ₁	2,873	1,598	1,153	4,380	2,025	1,477
nach A.	E ₂	0,390	0,233	0,159	0,719	0,282	0,206
	Qu ₂	2,468	1,910	1,432	4,551	2,311	1,856
E ₁ - E ₂		0,064	-0,038	-0,031	-0,027	-0,035	-0,042
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,141	-0,195	-0,242	-0,039	-0,142	-0,256
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	1,677	0,762	0,273	1,575	0,613	0,273
	Qu ₁	6,165	4,405	1,706	5,790	3,543	1,706
nach A.	E ₂	1,685	0,783	0,274	1,525	0,672	0,249
	Qu ₂	6,195	4,526	1,713	5,607	3,884	1,556
E ₁ - E ₂		-0,008	-0,021	-0,001	0,050	-0,059	0,024
(E ₁ -E ₂)/E ₁		-0,005	-0,028	-0,004	0,032	-0,096	0,088
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	0,530	0,208	0,130	0,356	0,176	0,129
	Qu ₁	3,193	1,705	1,066	2,145	1,443	1,057
nach A.	E ₂	0,227	0,173	0,162	0,256	0,155	0,204
	Qu ₂	1,571	1,418	1,328	1,542	1,270	1,672
E ₁ - E ₂		0,303	0,035	-0,032	0,100	0,021	-0,075
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,572	0,168	-0,246	0,281	0,119	-0,581

Tab. 12 Einfluß der Rheumafaktor - Absorption an Latexpartikel
auf den indirekten ELISA

Patient 38 K.pneumoniae V/7927 (K 14) RF im Latextest: 1: 80

Datum der Serumproben

		25. 6.80			18.11.80		
		Serumverdünnung			Serumverdünnung		
		10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴
Ig A ELISA							
vor A.	E ₁	0,485	0,249	0,189	0,496	0,200	0,168
	Qu ₁	2,462	1,376	1,044	2,518	1,105	0,928
nach A.	E ₂	0,483	0,216	0,180	0,528	0,213	0,168
	Qu ₂	2,452	1,193	0,994	2,680	1,177	0,928
E ₁ - E ₂		0,002	0,033	0,009	-0,032	-0,013	0,000
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,041	0,133	0,048	-0,065	-0,065	0,000
Ig G ELISA							
vor A.	E ₁	0,873	0,279	0,179	1,217	0,316	0,203
	Qu ₁	2,686	1,197	1,000	3,745	1,356	1,134
nach A.	E ₂	0,991	0,302	0,211	1,215	0,333	0,198
	Qu ₂	3,049	1,296	1,179	3,738	1,429	1,106
E ₁ - E ₂		-0,118	-0,023	-0,032	0,002	-0,017	0,005
(E ₁ -E ₂)/E		-0,135	-0,082	-0,179	0,002	-0,054	0,025
Ig M ELISA							
vor A.	E ₁	0,350	0,198	0,170	0,319	0,198	0,175
	Qu ₁	1,483	1,076	0,983	1,352	1,076	1,012
nach A.	E ₂	0,338	0,189	0,170	0,309	0,159	0,156
	Qu ₂	1,432	1,027	0,983	1,309	0,864	0,902
E ₁ - E ₂		0,012	0,009	0,000	0,010	0,039	0,019
(E ₁ -E ₂)/E ₁		0,034	0,045	0,000	0,031	0,197	0,109

Tab. 13 - 1 Immunglobulinkonzentrationen der Patientenserien

Patient	Datum der Serumprobe	Ig A		Ig G		Ig M	
		54 - 268 IU/ml ¹	Normalwert:	92 - 206 IU/ml ²	Normalwert:	m: 69 - 287 IU/ml ³	w: 80 - 322 IU/ml ³
1	19.12.79	212		270		182	
2	19.12.79	67		115		713	
3	19.12.79	355		374		263	
4	27.12.79	173		127		327	
5	2. 1.80	255		362		106	
6	4. 1.80	311		311		92	
7	14. 1.80	345		185		321	
8	16. 1.80	161		259		47	
9	16. 1.80	121		213		127	
10	23. 1.80	287		230		353	
11	24. 1.80	156		213		113	
12	24. 1.80	105		81		66	
13	25. 1.80	96		174		166	
14	13. 2.80	1470		107		43	
15	8. 2.80	132		145		331	
16	11. 2.80	166		414		331	
17	11. 2.80	138		127		283	
18	18. 2.80	305		374		260	
19	20. 2.80	343		259		446	
20	25. 2.80	227		161		431	

1: 59,5 IU Ig A / ml = 1 mg Ig A / 100 ml bezogen auf
 2: 11,5 IU Ig G / ml = 1 mg Ig G / 100 ml Immunglobulin-
 3: 115,0 IU Ig M / ml = 1 mg Ig M / 100 ml standard (Behring)

Tab. 13 - 2 Immunglobulinkonzentrationen der Patientenserien

Patient	Datum der Serumprobe	Ig A		Ig G		Ig M	
		Normalwert: 54 - 268 IU/ml		Normalwert: 92 - 206 IU/ml		Normalwert: .m: 69 - 287 IU/ml w: 80 - 322 IU/ml	
21	26. 2.80	248		147		182	
22	28. 2.80	287		140		108	
23	1. 3.80	124		213		101	
24	3. 3.80	264		136		79	
25	10. 3.80	116		170		412	
26	18. 3.80	282		152		239	
27	21. 3.80	345		191		25	
28	21. 3.80	239		196		396	
29	21. 3.80	334		156		371	
30	10. 4.80	339		176		267	
31	11. 4.80	259		167		209	
32	14. 4.80	134		162		201	
33	15. 4.80	414		176		69	
34	16. 4.80	101		102		298	
35	21. 4.80	148		148		267	
36	14. 5.80	334		148		37	
37	22. 5.80	586		163		91	
38	25. 6.80	142		108		63	
39	27. 6.80	65		112		91	
40	1. 7.80	271		108		63	
41	10. 7.80	170		124		97	
42	15. 7.80	352		128		113	
$\bar{x} \pm s :$		261 $\pm$ 220		186 $\pm$ 81		209 $\pm$ 148	

Literaturverzeichnis

1. Adam, D.: Der aktive Einfluß von Faktoren des Wirtsorganismus auf die antimikrobielle Wirksamkeit von Chemotherapeutika: Untersuchungen in vitro mit Serum und Makrophagen, Habilitationsschrift 1972
2. Adler, J. L., Shulman, J. A., Terry, P. M., Feldman, D. B., Skalfy, P.: Nosocomial colonization with kanamycin - resistant *Klebsiella pneumoniae*, types 2 and 11, in a premature nursery, J. Pediatr. 77, 376-385 (1970)
3. Allen, P. Z.: Specific immunological reactions of polysaccharides In: Methods in Carbohydrate Chemistry, Volume V General Polysaccharides, Academic Press, New York, 1965
4. Avery, O. T., Heidelberger, M., Goebel, W. F.: The soluble specific substance of Friedländer's bacillus. Paper II: Chemical and immunological relationship of pneumococcus type II and a strain of Friedländer's bacillus. J. exp. Med. 42: 709-725 (1925)
5. Barker, S. A., Foster, A. B., Siddiqui, I. R., Stacey, M.: Structure of an acidic polysaccharide elaborated by *Aerobacter aerogenes*. Nature 181: 999, (1958)

6. Barrett, D. J., Ammann, A. J., Stemnark, S., Wara, D. W.: Immunoglobulin G and M antibodies to pneumococcal polysaccharides detected by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Infect. Immun.* 27: 411-417 (1980)
7. Batshon, B. A., Baer, H., Shaffer, M. E.: Immunological paralysis produced in mice by *Klebsiella pneumoniae* type 2 polysaccharide. *J. Immunol.* 90:121-126 (1963) (zit. nach [52])
8. Bauernfeind, A., Petermüller, C., Schneider, R.: Bacteriocins as tools in analysis of nosocomial *Klebsiella pneumoniae* infections. *J. Clin. Microbiol.* 14: 15-19 (1981)
9. Bellanti, J. A.: *Immunology II*. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1978
10. Berdal, B. P., Olsvik, Ø, Omeland, T.: A Sandwich ELISA Method for detection of *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Acta path. microbiol. scand. Sect. B*, 89: 411-415 (1981)
11. Bloomfield, A.: The fate of bacteria introduced into the upper air passages V. The Friedländer bacilli. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 31: 203-206 (1920)
12. Brodeur, B. R., Ashton, F. E., Diena, B. B.: Enzyme-linked Immunosorbent Assay with polyvalent gonococcal antigen. *J. Med. Microbiol.* 15: 1-9 (1982)

13. Budde, E., Naumann, G., Nimmich, W., Straube, E.:
Escherichia coli-O-Serotypisierung bei verschiedenen Patientengruppen mit Harnwegsinfektionen.
Infection 8:22-26 (1980)
14. Bullock, S. L., Walls, K. W.: Evaluation of some
of the parameters of the Enzyme-Linked
Immunospecific Assay. J. Infect. Dis. 136,
Suppl.: S279-S285 (1977)
15. Bullowa, J. G. M., Chess, J., Friedman, N. B.:
Pneumonia due to Bacillus Friedländeri. A report
on forty-one patients, with consideration of
specific serum therapy. Arch. Intern. Med. 60:
735-752 (1937)
16. Mc. Cabe, W. R., Bruins, S. C., Craven, D. E.,
Johns, M.: Cross-reactive antigens: Their
potential for immunization-induced immunity to
gram-negative bacteria. J. Infect. Dis, 136,
Suppl.: S161 - S166 (1977)
17. Carlson, B. A., Giebink, G. S., Spika, J. S.,
Gray, E. D.: Measurement of Immunoglobulin G and
M Antibodies to type 3 pneumococcal capsular
polysaccharide by Enzyme-Linked Immunosorbent
Assay. J. Clin. Microbiol. 16: 63-69 (1982)
18. Carlsson, H. E., Lindberg, A. A., Hammarström,
S.: Titration of antibodies to Salmonella O
antigens by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.
Imfect. Immun. 6: 703-708 (1972)

19. Casewell, M. W.: Experiences in the use of commercial antisera for the capsular typing of *Klebsiella* species. British Medical Association, Tavistock Square, London WC1H 9JR. Reprinted from the Journal of Clinical Pathology Volume 25, page 734, 1972
20. Casewell, M. W., Dalton, M. T., Webster, M., Philipps, I.: Gentamicin-resistant *Klebsiella aerogenes* in a urological ward. *Lancet* 444-446 (1977)
21. Casewell, M. W., Philipps, I.: Epidemiological patterns of *Klebsiella* colonization and infection in an intensive care ward. *J. Hyg., Camb.* 80: 295-300 (1978)
22. Casewell, M., Talsania, H. G.: Predominance of certain *Klebsiella* capsular types in hospitals in the United Kingdom. *J. Infection* 1: 77-79 (1979)
23. Cleat, P. H., Ross, J., Needham, J. R.: Antibody levels in mothers colonised with group B *Streptococci* during pregnancy and in their newborn infants, as measured by an Enzyme Linked Immunosorbent Assay. *Med. Microbiol. Immunol.* 168: 49-53 (1980)
24. Cooke, E. M., Brayson, J.C., Edmondson, A. S., Hall, D.: An investigation into the incidence and sources of *Klebsiella* infections in hospital patients. *J. Hyg., Camb.* 82: 473-480 (1979)

25. Cooke, E. M., Edmondson, A. S., Starkey, W.: The ability of strains of *Klebsiella aerogenes* to survive on the hands. *J. Med. Microbiol.* 14: 443-450 (1981)
26. Crowder, J. G., White, A.: A serological response in human *Pseudomonas* infection. *J. Lab. Clin. Med.* 75: 128-136 (1970)
27. Cryz, S. J., Fürer, E., Germanier, R.: Development of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for studying *Vibrio cholerae* cell surface antigens. *J. Clin. Microbiol.* 16: 41-45 (1982)
28. Curie, K., Speller, D.C.E., Simpson, R. A., Stephens M., Cooke D. I.: A hospital epidemic caused by a gentamycin-resistant *Klebsiella aerogenes*. *J. Hyg. Camb.* 80: 115-123 (1978)
29. Curvall, M., Lindberg, B., Lönnngren, J.: Structural studies of the capsular polysaccharide of *Klebsiella* type 28. *Carbohydr. Res.* 42: 95-105 (1975)
30. Dahlberg, T., Branefors, P.: Characterization of the bactericidal antibody response against *Haemophilus influenzae*. *Acta path. microbiol. scand. Sect. C* 88: 115-120 (1980)
31. Dahlberg, T., Branefors, P.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for titration of *Haemophilus influenzae* capsular and O antigen antibodies. *J. Clin. Microbiol.* 12: 185-192 (1980)

32. Dahlberg, T.: Quantitation of antibodies to *Haemophilus influenzae* type b in humans by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Clin. Microbiol.* 13: 1080-1087 (1981)
33. Daschner, F.: Krankenhausinfektionen in einem Universitätsklinikum. Prospektive Analyse von 39802 Patienten. *DMW* 106. Jg.:101-105 (1981)
34. Davis, T. D., Matsen, J. M.: Prevalence and characteristics of *Klebsiella* species: Relation to association with a hospital Environment. *J. Infect. Dis.* 130: 402-405 (1974)
35. Edebo, L., Nilsson, B.-O., Lindberg, A., Svenungsson, B., Coombs, R. R. A.: Class of serum antibodies towards *Salmonella enteritidis* in gastroenteritis, as measured by Mixed reverse Passive Antiglobulin Haemagglutination (MRPAH). *Acta path. microbiol. scand. Sect. B*: 89 341-346 (1981)
36. Edwards, P. R., Ewing, W. H.: Identification of *Enterobacteriaceae*. 3. ed. Burgess Publishing Company, Minneapolis, 1972
37. Eickhoff, T. C.: Nosocomial respiratory tract infections: The gastrointestinal tract as a reservoir. In: New criteria for antimicrobial therapy: Maintenance of digestive tract colonization resistance. Proceedings of a Symposium Utrecht January 1979 van der Waaij, D.; Verhoef, J. (ed). Excerpta medica, Amsterdam, 1979

38. Eidelman, A. I., Reynolds, J.: Gentamicin-resistant *Klebsiella* infections in a neonatal intensive care unit. *Am. J. Dis. Child.* 132: 421-422 (1978)
39. Ekwall, E., Haeggmann, S., Kalin, M., Svenungsson, B., Lindberg, A. A.: Antibody response to *Shigella sonnei* infection determined by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 2: 200-205 (1983)
40. Elwell, L. P., Inamine, J. M., Minshew, B. H.: Common plasmid specifying tobramycin resistance found in two enteric bacteria isolated from burn patients. *Antimicrob. Agents Chemother.* 13: 312-317 (1978)
41. Engvall, E., Perlmann, P.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA III Quantitation of specific antibodies by enzyme-labeled antiimmunoglobulin in antigen-coated tubes. *J. Immunol.* 109: 129-135 (1972)
42. Eriksen, J., Henriksen, S. D.: Immunochemical studies on some serological cross-reactions in the *Klebsiella* group. 9. Crossreactions between *Klebsiella* types 11,21 and a closely related strain. *Acta path. microbiol. scand.* 55: 245-250 (1963)
43. Eriksen, J.: Passive haemagglutination test, using erythrocytes sensitized with *Klebsiella* type specific polysaccharides. *Acta path. microbiol. scand. Sect. B* 81: 309-313 (1973)

44. Eriksen, J.: Further studies of the cross-reaction between *Klebsiella* type 12 and type 13 capsular polysaccharides in sera from hyperimmunized rabbits. *Acta path. microbiol. scand. Sect. C* 83: 329-337 (1975)
45. Evans, D. G., Evans, D. J., Clegg, S.: Detection of enterotoxigenic *Escherichia* Colonization Factor Antigen I in stool specimens by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Clin. Microbiol.* 12: 738-743 (1980)
46. Fallon, R. J. : *Klebsiellae* in chronic respiratory disease. *Lancet* 1: 641-642, (1968) (zit. nach [109])
47. Fehr, K., Böni, A.: Gelenke. In: Vorlaender, K.-O. (Hrsg.): *Immunologie: Grundlagen - Klinik - Praxis*, 2. Aufl., Thieme Stuttgart - New York, 1983
48. Felgner, P.: Stepless antibody determination with the Stick-ELISA Technique. Results expressed as Multiple of Normal Activity (MONA). *Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A* 242: 100-105 (1978)
49. Fuxench-López, Z., Ramírez-Ronda, C. H.: Pharyngeal flora in ambulatory alcoholic patients. Prevalence of gram-negative bacilli. *Arch. Intern. Med.* 138: 1815-1816 (1978)
50. Gahan, L. C., Sandford, P. A., Conrad, H. E.: The structure of the serotype 2 capsular polysaccharide of *Aerobacter aerogenes*. *Biochemistry* 6: 2755-2767 (1967)

51. Gerding, D. N., Buxton, A. E., Hughes, R. A., Clearly, P. P., Artaczkawski, J., Stamm, W. E.: Nosocomial multiply resistant *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology of an outbreak of apparent index case origin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 15: 608-615 (1979)
52. Geyer, H., Schlecht, S., Himmelsbach, K.: Immunochemical properties of oligosaccharide - protein conjugates with *Klebsiella* - K 2 - Specificity. II Protective capacity of the conjugates and anti-conjugate antibodies against infection with *Klebsiella pneumoniae* O1:K2 in mice. *Med. Microbiol. Immunol.* 171: 135-143 (1982)
53. Glynn, A. A.: Bacterial immunity. In: *Comprehensive Immunology* v.8 Nahmias, A. J., O'Reilly, R. J. (ed.), Immunology of human infection, Part I: Bacteria, Mycoplasmae, Chlamydiae, and Fungi. Plenum Medical Book Company, New York - London 1981
54. Granfors, K., Viljanen, M. K., Tiilikainen, A., Toivanen, A.: Persistence of Ig M, Ig G and Ig A antibodies to *Yersinia* in *Yersinia* arthritis. *J. Infect. Dis.* 141: 424-429 (1980)
55. Granfors, K., Viljanen, M. K., Toivanen, A.: Measurement of immunoglobulin M, immunoglobulin G and immunoglobulin A antibodies against *Yersinia enterocolitica* by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay: Comparison of lipopolysaccharide and whole bacterium as antigen. *J. Clin. Microbiol.* 14: 6-14 (1981)

56. Granström, M., Lindberg, A. A., Akelöf, P., Hederstedt, B.: Detection of antibodies in human serum against the fimbrial haemagglutinin of *Bordetella pertussis* by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Med. Microbiol.* 15: 85-96 (1982)
57. Hable, K. A., Matsen, J. M., Wheeler, D. J., Hunt, C. E., Quie, P. G.: *Klebsiella* type 3 septicemia in an infant intensive care unit. *J. Pediatr.* 80: 920-924 (1972)
58. Hand, W. L., Smith, J. W.: Immunology of enterobacterial infections. In: *Comprehensive Immunology* v. 8, Nahmias, A. J., O'Reilly, R. J. (ed.) *Immunology of human infection, Part I: Bacteria, Mycoplasmae, Chlamydiae, and Fungi*. Plenum Medical Book Company, New York-London, 1981
59. Harper, H. A., Löffler, G., Petrides, P. E., Weiss, L.: *Physiologische Chemie. Eine Einführung in die medizinische Biochemie für Studierende der Medizin und Ärzte*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, 1975
60. Hart, C. A.: Nosocomial gentamicin- and mutiply-resistant enterobacteria at one hospital. 1. Description of an outbreak. *J. Hosp. Inf.* 3: 15-28 (1982)
61. Hartmann, F.: Erkrankungen der Gelenke. In: Gross, R., Schölmerich, P. (Hrsg.): *Lehrbuch der Inneren Medizin*. 6. Aufl. Schattauer Verlag, Stuttgart/New York, 1982

62. Haverkorn, M. L., Michel, M. F.: Nosocomial Klebsiellas. I Colonization of hospitalized patients. J. Hyg., Camb. 82: 177-192 (1979)
63. Heidelberger, M., Goebel, W. F., Avery, O. T.: The soluble specific substance of a strain of Friedländer's bacillus. Paper I. J. Exp. Med. 42: 701-705 (1925)
64. Heidelberger, M.: Diskussionbeitrag zu Dixon, F. J.: Characterization of the antibody response. Symposium on antibodies: Their production and mechanism of action, given at Research Conference for Biology and Medicine of the Atomic Energy Commission, Gatlinburg, Tennessee, April 8-10, 1957 (abgedruckt im J. Cell. Comp Phys. 50 (Suppl. 1): 27-50 (1957)
65. Heidelberger, M., Dudman, W. F., Nimmich, W.: Immunochemical relationships of certain capsular polysaccharides of Klebsiella, Pneumococci and Rhizobia. J. Immunol. 104: 1321-1328 (1970)
66. Heidelberger, M., Dutton, G. G. S.: Cross-reactions of additional extracellular polysaccharides of Klebsiella. J. Immunol. 109: 1337-1344 (1972)
67. Heidelberger, M., Nimmich, W.: Additional immunological relationships of capsular polysaccharides of Klebsiella and pneumococci. J. Immunol. 109: 1337-1344 (1972)
68. Heidelberger, M.: Immunochemistry of bacterial polysaccharides. In: Research in Immunochemistry and Immunobiology, v. 3: 1-40, 1973

69. Heidelberger, M., Nimmich, W., Eriksen, J., Dutton, G. G. S., Stirm, S., Fang, C. T.: Cross-reactions of Klebsiella. Immunochemical-relationships indicated by cross-reactions in antipneumococcal sera and tested in anti-Klebsiella sera. *Acta path. microbiol. scand. Sect. C* 83: 397-405, (1975)
70. Heidelberger, M., Nimmich, W.: Immunochemical relationships between bacteria belonging to two separate families: Pneumococci and Klebsiella. *Immunochemistry* 13: 67-80 (1976)
71. Heidelberger, M., Dutton, G.G.S., Eriksen, J., Nimmich, W., Stirm, S.: Additional correlations of chemical structure and immunological specificity among cross-reactions of Pneumococci and Klebsiella. *Acta path. microbiol. scand. Sect. C* 90: 87-90 (1982)
72. Henriksen, S. D.: Studies on the Klebsiella group (Kauffmann) 1. Sero-Types of a collection of strains from human sources and from water. *Acta path. microbiol. scand.* 34: 249-258 (1954)
73. Henriksen, S. D.: Studies of the Klebsiella group (Kauffmann) V. Serological reactions of type AE, and of strains related to types 14,29,42 and 41. *Acta path. microbiol. scand.* 34: 276-285 (1954)

74. Henriksen, S. D., Eriksen, J.: Immunochemical studies on some serological cross-reactions in the Klebsiella group. 1. A quantitative study of the cross-reactions between Klebsiella types A (1), E (5) and AE. Acta path. microbiol. scand. 45: 381-386 (1959)
75. Henriksen, S. D., Eriksen, J.: Immunochemical studies on some serological cross-reactions in the Klebsiella group. 7. Serological reactions of some strains of type 3 (C) and some cross-reacting strains. Acta path. microbiol. scand. 54: 391-397 (1962)
76. Henriksen, S. D.: Serotyping of bacteria. Bergan, T., Norris, J. R. (ed): Methods in Microbiology v. 12, Academic Press, London, 1978
77. Hill, H. R., Hunt, C. E., Matsem, J. M.: Nosocomial colonization with Klebsiella, type 26, in a neonatal intensive-care unit associated with a outbreak of sepsis, meningitis, and necrotizing enterocolitis. J. Pediatr. 85: 415-419 (1974)
78. Höbel, B.: Nachweis spezifischer Antikörper gegen Lipopolysaccharid von Pseudomonas aeruginosa im menschlichen Serum. Inaugural-Dissertation, München 1981
79. Holmgren, J., Svennerholm, A.-M.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Cholera Serology. Infect. Immun. 7: 759-763 (1973)

80. Jann, K., Westphal, O.: Microbial polysaccharides. In: Sela, M. (ed.) The Antigens v. III, Academic Press, New York/San Francisco/London, 1975
81. Jiminez, E. M., Schick, D. G., Canawati, H. N., Montgomerie, J. Z: *Klebsiella pneumoniae* colonization of the bowel associated with the use of Trimethoprim-Sulfamethoxazole. Eur. J. Clin. Microbiol. 1: 253-254 (1982)
82. Jodal, U., Lindberg, U., Lincoln, K. : Level diagnosis of symptomatic urinary tract infections in childhood. Acta Paediatr. Scand. 64: 201-208 (1975) (zit. nach [58])
83. Johansen, K. S., Pedersen, F.K.: Antibody response and opsonization after pneumococcal vaccination in splenectomized children and healthy persons. Acta path. microbiol. immunol. scand. Sect. C 90: 265-270 (1982)
84. Johanson, W. G., Pierce, A. K., Sanford, J. P.: Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients. Emergence of gramnegative bacilli. N. Engl. J. Med. 281: 1137-1140 (1969)
85. Johanson, W. G., Pierce, A. K., Sanford, J. P., Thomas, G. D.: Nosocomial respiratory infections with gram-negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. Ann. Intern. Med. 11: 701-706 (1972)

86. Jones, A. S.: The isolation of bacterial nucleic acids using Cetyltrimethylammonium Bromide (Cetavlon). *Biochim. Biophys. Acta* 10: 607-612 (1953)
87. Kaldor, J., Pritchard, H., Serpell, A. Metcalf, W.: Serum antibodies in *Campylobacter* Enteritis. *J. Clin. Microbiol.* 18: 1-4 (1983)
88. Kalish, S.B., Radin, R.C. Phair, J.P., Levitz, D., Zeiss, C.R., Metzger, E.: Use of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Technique in the differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis in humans. *J. Infect. Dis.* 147: 523-530 (1983)
89. Karlsson, K., Carlsson, H.E., Neringer, R., Lindberg, A.A.: Application and usefulness of Enzyme Immunoassays for diagnosis of *Salmonella typhimurium* infection. *Scand. J. Infect. Dis.* 12: 41-47 (1980)
90. Kauffmann, F.: On the serology of the *Klebsiella* group. *Acta path. microbiol. scand.* 26: 381-406 (1949)
91. Keren, D.F.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for immunoglobulin G and immunoglobulin A antibodies to *Shigella flexneri* antigens. *Infect. Immun.* 24: 441-448 (1979)
92. Klein, J.: Immunology - The science of self-non-self discrimination, Wiley-Interscience Publ., New York, 1982

93. Knittle, M.A., Eitzman, D.V., Baer, H.: Role of hand contamination of personnel in the epidemiology of gram-negative nosocomial infections. *J. Pediatr.* 86: 433-437 (1975)
94. Kunin, C.M., Beard, M.V., Halmagyi, N.E.: Evidence for a common hapten associated with endotoxin fractions of *E. coli* and other Enterobacteriaceae. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.* 111: 160-166 (1962)
95. Kunin, C.M., Beard, M.V.: Serological studies of O antigens of *Escherichia coli* by means of the haemagglutination test. *J. Bacteriol.* 85: 541-547 (1963)
96. Kunin, C.M.: Separation, characterization, and biological significance of a common antigen in Enterobacteriaceae. *J. Exp. Med.* 118: 556-586 (1963)
97. Lamb, V.L., Jones, L.M., Schurig, G.G., Berman, D.T.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for bovine immunoglobulin subclass-specific response to *Brucella abortus* lipopolysaccharides. *Infect. Immun.* 26: 240-247 (1979)
98. Leinikki, P.O., Passila, S.: Quantitative, semi-automated Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for viral antibodies. *J. Infect. Dis.* 136, Suppl.: S294-S299 (1977)

99. Leinikki, P.O., Shekarchi, I., Dorsett, P., Sever, J.L.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay determination of specific Rubella antibody levels in micrograms of immunoglobulin G per milliliter of serum in clinical samples. *J. Clin. Microbiol.* 8: 419-423 (1978)
100. Mackowiak, P.A., Martin, R.M., Jones, S.R., Smith, J.M.: Pharyngeal colonization by gram-negative bacilli in aspiration-prone persons. *Arch. Intern. Med.* 138: 1224-1227 (1978)
101. Malkamäki, M.: Antibodies to the Enterobacterial Common Antigen: Standardization of the passive hemagglutination test and levels in normal human sera. *J. Clin. Microbiol.* 13: 1074-1079 (1981)
102. Mansheim, B.J., Kasper, D.L.: Detection of anti-capsular antibodies to *Bacteroides asaccharolyticus* in serum from rabbits and humans by use of an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Infect. Dis* 140: 945-951 (1979)
103. Markowitz, S.M., Veazey, J.M., Macrina, F.L., Mayhall, C.G., Lamb, V.A.: Sequential outbreaks of infection due to *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit: Implication of a conjugative R plasmid. *J. Infect. Dis.* 142: 106-112 (1980)
104. Martin, C.M., Ikari, N.S., Zimmerman, J., Waitz, J.A.: A virulent nosocomial *Klebsiella* with a transferable R factor for Gentamicin: emergence and suppression. *J. Infect. Dis.* 124, Suppl.: S24-S29 (1971)

105. Mayer, H., Schmidt, G.: Chemistry and biology of the Enterobacterial Common Antigen (ECA). Current Topics in Microbiology and Immunology 85, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg/New York, 1979
106. Meyer, S., Brunner, H.: Enzyme-Immuno-Assay bei Listeriose. Antikörper- und Antigennachweis - Vorläufige Mitteilung. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 248: 469-578 (1981)
107. Mineo, J.R., Camargo, M.E., Ferreira, A.W.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for antibodies to *Toxoplasma gondii* polysaccharides in human toxoplasmosis. Infect. Immun. 27: 283-287 (1980)
108. Mössner, G., Petersen, K.F., Gaca, A., Thelen, A.: O-Gruppenserologie von 111 *E. coli*-Stämmen. In: Losse, H., Kienitz, M.: Pyelonephritis Forschungsergebnisse 1966. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1967
109. Montgomerie, J.Z.: Epidemiology of *Klebsiella* and hospital-associated infections. Rev. Infect. Dis. 1: 736-752 (1979)
110. Mutchnick, M.G., Keren, D.F.: In vitro synthesis of antibody to specific bacterial lipopolysaccharides by peripheral blood mononuclear cells from patients with alcoholic cirrhosis. Immunology 43: 177-181 (1981)

111. Neter, E., Bertram, L.F., Zak, D.A., Murdock, M.R., Arbesman, C.E.: Studies on hemagglutination and hemolysis by *Escherichia coli* antisera. J. Exp. Med. 96: 1-15 (1952)
112. Neter, E., Kennedy, E.A., Jewett, T.C.: Antibody responses to Common Enterobacteria] Antigen of children with pyogenic peritonitis. Infection 1: 12-16 (1973)
113. Niemann, H., Kwiatkowski, B., Westphal, U., Stirm, S.: Klebsiella serotype 25 capsular polysaccharide: Primary structure and depolymerization by a bacteriophage-borne glycanase. J. Bacteriol. 130: 366-374 (1977)
114. Nimmich, W.: Zur Isolierung und qualitativen Bausteinanalyse der K-Antigene von Klebsiellen. Z. med. Mikrobiol. u. Immunol. 154: 118-131 (1968/1969)
115. Ørskov, F., Ørskov, I., Paerregard, P.: Nosocomial intestinal infections with *Escherichia coli* and *Klebsiella*. Acta path. microbiol. scand. 39: 67-80 (1956)
116. Ørskov, I.: Nosocomial infections with *Klebsiella* in lesions of the urinary tract. II. Acta path. microbiol. scand. 35: 194-204 (1954)
117. Ørskov, I.: Serological investigations in the *Klebsiella* group. 1. New capsule types. Acta path. microbiol. scand. 36: 449-453 (1955)

118. Ørskov, I., Ørskov, F., Jann, B., Jann, K.: Sero-
logy, chemistry and genetics of O and K antigens
of *Escherichia coli*. *Bacteriol. Rev.* 41: 667-710
(1977)
119. Palfreyman, J.M.: *Klebsiella* serotyping by
counter-current immunoelectrophoresis. *J. Hyg.,
Camb.* 81: 219-225 (1978)
120. Park, S.H., Eriksen, J., Henriksen, S.D.:
Structure of the capsular polysaccharide of *Kleb-
siella pneumoniae* type 2 (B). *Acta path. micro-
biol. scand.* 69: 431-436 (1967)
121. Peddie, B.A., Bettelheim, K.A., Chereshtsky, A.Y.:
O and H serotypes of *Escherichia coli* isolated
from urinary tract infections. *Zbl. Bakt. Hyg.,
1. Abt. Orig. A* 250: 47-51 (1981)
122. Pollack, M., Charache, P., Nieman, R.E., Jett,
M.P., Reinhardt, J.A., Hardy, P.H.: Factors in-
fluencing colonisation and antibiotic-resistance
patterns of gram-negative bacteria in hospital
patients. *Lancet*, September 30: 668-671 (1972)
123. Pope, V., Hunter, E.F., Feeley, J.C.: Evaluation
of the Microenzyme-Linked Immunosorbent Assay
with *Treponema pallidum* antigen. *J. Clin. Micro-
biol.* 15: 630-634 (1982)
124. Poxton, I.R., Brown, R., Collee, J.G.: Detection
of species-specific and cross-reactive cell-sur-
face antigens of *Bacteroides* species by an indi-
rekt Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Med.
Microbiol.* 15: 223-231 (1982)

125. Price, D.J.E., Sleigh, J.D.: Control of infection due to *Klebsiella aerogenes* in a neurosurgical unit by withdrawal of all antibiotics. *Lancet* 2: 1213-1215 (1970)
126. Rennie, R.P., Duncan, I.B.R.: Combined biochemical and serological typing of clinical isolates of *Klebsiella*. *Appl. Microbiol.* 28: 534-539 (1974)
127. Rennie, R.P., Duncan, I.B.R.: Emergence of gentamicin-resistant *Klebsiella* in a general hospital. *Antimicrob. Agents Chemother.* 11: 179-184 (1977)
128. Rissing, J.P., Buxton, T.B., Moore, W.L., Ozawa, T., Moore, W.L.: Enzyme-Linked Immunospecific Antibody Test for detecting antibody to *Klebsiella*. *J. Clin. Microbiol.* 8: 704-707 (1978)
129. Rissing, J.P., Buxton, T.B., Edmondson, H.T.: Detection of specific Ig G antibody in sera from patients infected with *Bacteroides fragilis* by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Infect. Dis.* 140: 994-998 (1979)
130. Rose, H.D., Schreier, J.: The effect of hospitalization and antibiotic therapy on the gram-negative fecal flora. *Am. J. Med. Sci.* 255: 228-236 (1968)

131. Ross, B.S., Peter, G., Dempsey, J.M., Oh, W.: *Klebsiella pneumoniae* nosocomial epidemic in an intensive care nursery due to contaminated intravenous fluid. *Am. J. Dis. Child.* 131: 712 (1977)
132. Rossen, R.D., Wolff, S.M., Butler, W.T.: The antibody response in nasal washings and serum to *S. typhosa* endotoxin administered intravenously. *J. Immunol.* 99: 246-254 (1967)
133. Rote, N.S., Taylor, N.L., Shigeoka, A.O., Scott, J.R., Hill, H.R.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for group B streptococcal antibodies. *Infect. Immun.* 27: 118-123 (1980)
134. Russell, H., Edwards, L.E., Wortham, E.W., Facklam, R.R.: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for detection of antibodies against *Streptococcus pneumoniae* capsular polysaccharides. *J. Clin. Microbiol.* 11: 189-199 (1980).
135. Sack, D.A., Huda, S., Neogi, P.K.B., Daniel, R.R., Spira, W.M.: Microtiter ganglioside Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for *Vibrio* and *Escherichia coli* heat-labile enterotoxins and antitoxin. *J. Clin. Microbiol.* 11: 35-40 (1980)
136. de Savigny, D., Voller, A.: The communication of ELISA data from laboratory to clinician. *J. Immunoassay* 1: 105-128 (1980)

137. Schaberg, D.R., Weinstein, R.A., Stamm, W.E.: From the Center for Disease Control. Epidemics of nosocomial urinary tract infection caused by multiply resistant gram-negative bacilli: Epidemiology and control. *J. Infect. Dis.* 133: 363-366 (1976)
138. Scheckler, W.E.: Nosocomial infections in a community hospital. *Arch. Intern. Med.* 138: 1792-1794 (1978) (zit. nach [142])
139. Schmolke, B.: Eiweißanalytische und immunologische Nachweisverfahren. In: Vorlaender, K.-O. (Hrsg.), *Immunologie: Grundlagen-Klinik-Praxis*. 2. Aufl., Thieme, Stuttgart/New York, 1983
140. Seal, D.V., McSwiggan, D.A., Datta, N., Feltham, R.K.A.: Characterization of an epidemic strain of *Klebsiella* and its variants by computer analysis. *J. Med. Microbiol.* 14: 295-305 (1981)
141. Selden, R., Lee, S., Wang, W.L.L., Bennett, J.V., Eickhoff, T.C.: Nosocomial *Klebsiella* Infections; Intestinal Colonization as a reservoir. *Ann. Intern. Med.* 74: 657-664 (1971)
142. Siegenthaler, W., Fuchs, P., Siegenthaler, G., Lüthy, R.: Infektionskrankheiten und antiinfektiöse Therapie auf Intensivstationen. *Intensivmed.* 19: 128-131 (1982)
143. Sietzen, W.: Typisierung von *Escherichia coli*-O- und -K-Antigenen bei Patienten mit Harnwegsinfektionen. *Infection* 7, Suppl. 2: S197 - S206 (1979)

144. Skaug, K., Vik, I.S.S., Qvigstad, E., Ulstrup, J.C., Jerve, F.: Chlamydial serum Ig G antibodies in patients with acute salpingitis measured by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Acta path. microbiol. scand. Sect C* 90: 67-71 (1982)
145. Snyderman, D.R., Gorbach, S.L.: Sputum: A diagnostic pitfall in alcoholics. *Arch. Intern. Med.* 138: 1778 (1978)
146. Solberg, C.O.: Infections in the immunocompromised host. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 24: 36-43 (1980)
147. Solomon, S.: Primary Friedländer pneumonia. *J.A.M.A.*, 108: 937-947 (1937)
148. Stiffler-Rosenberg, G., Fey, H.: Simple assay for staphylococcal enterotoxins A, B, and C: Modification of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *J. Clin. Microbiol.* 8: 473-479 (1978)
149. Sutherland, I.W.: The exopolysaccharides of *Klebsiella* serotype 2 strains as substrates for phage-induced polysaccharide depolymerases. *J. Gen. Microbiol.* 70: 331-338 (1971)
150. Sutherland, I.W.: The occurrence of acyl groups in *Klebsiella* exopolysaccharides. *J. Gen. Microbiol.* 65: v-vi (1971)

151. Sutherland, I.: Bacterial Exopolysaccharides - their nature and production. In: Sutherland, I. (ed.): Surface carbohydrate of the procaryotic cell. Academic Press. London/New York/San Francisco, 1977
152. Thiemke, W.A., Nathan, D.M.: Simultaneous nosocomial outbreaks caused by multiply resistant *Klebsiella pneumoniae* types 2 and 30. J. Clin. Microbiol. 8: 769-771 (1978)
153. Thom, B.T.: *Klebsiella* in faeces. Lancet: 1033 (1970)
154. Tillotson, J.R., Finnland, M.: Bacterial colonization and clinical superinfection of the respiratory tract complicating antibiotic treatment of pneumonia. J. Infect. Dis. 119: 597-624 (1969)
155. Turner, M.W., Rowe, D.S.: Characterization of human antibodies to *Salmonella typhi* by gel-filtration and antigenic analysis. Immunology 7: 639-656 (1964)
156. Undeutsch, C., Brunner, H.: Einfluß von Antikörpern auf die Phagozytose von *Klebsiella pneumoniae* durch Alveolarmakrophagen. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 249: 43-52 (1981)
157. Vesikari, T., Granfors, K., Mäki, M., Grönroos, P.: Evaluation of ELISA in the diagnosis of *Yersinia enterocolitica* diarrhoea in children. Acta path. microbiol. scand. Sect. B 88: 139-142 (1980)

158. Viljanen, M.K., Ruuskanen, O., Granberg, C., Salmi, T.: Serological diagnosis of Pertussis: Ig M, Ig A and Ig G antibodies against *Bordetella pertussis* measured by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Scand. J. Infect. Dis.* 14: 117-122 (1982)
159. Voller, A., Bidwell, D.E., Bartlett, A.: The Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) - A review with a bibliography of microplate applications. Flowline Publications, Guernsey, Europe, 1977
160. Vos, J.G., Buys, J., Hanstede, J.G., Hagenaars, A.M.: Comparison of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and passive hemagglutination method for quantification of antibodies to lipopolysaccharide and tetanus toxoid in rats. *Infect. Immun.* 24: 798-803 (1979)
161. Waller, M., Toone, E. C., Vaughan, E.: Study of rheumatoid factor in a normal population. *Arthr. Rheum.* 7: 513 (1964) (zit. nach [46])
162. Weiss, W., Eisenberg, G.M., Spivack, A., Nadel, J., Kayser, H.L., Sathavara, S., Flippin, H.F.: *Klebsiella* in respiratory disease. *Ann. Intern. Med.* 45: 1010-1026 (1956)
163. Westphal, O., Lüderitz, O., Bister, F.: Über die Extraktion von Bakterien mit Phenol/Wasser. *Z. Naturforsch.* 7b: 148-155 (1952)

164. Young, C.R., Levine, M.M., Craig, J.P., Robins-Browne, R.: Microtiter Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for immunoglobulin G Cholera antitoxin in humans: Method and correlation with rabbit skin vaskular permeability factor technique. *Infect. Immun.* 27: 492-496 (1980)
165. Young, L.S.: Gram-negative bacillary colonization and bacteremia in the compromised host. *Infection* 10: 319-332 (1982)
166. Ziola, B., Meurman, O., Matikainen, M.-T., Salmi, A., Kalliomäki, J.L.: Determination of human immunoglobulin M rheumatoid factor by a solid-phase Radioimmunoassay which uses human immunoglobulin G in antigen-antibody complexes. *J. Clin. Microbiol.* 8: 134-141 (1978)

Lebenslauf

Barbara Przyklenk

Geburtsdatum : 7.7.1957
Geburtsort : Goslar
Eltern : Margarete Przyklenk, Chemotechniker
Werner Przyklenk, Bauunternehmer
1963 - 1967 : Besuch der Grundschule an der
Farinellistraße, München
1967 - 1976 : Besuch des mathematisch-naturwissen-
schaftlichen Zweigs des Willi Graf-
Gymnasiums, München
1976 : Abitur
1976 - 1982 : Studium der Humanmedizin an der
Ludwig Maximilians-Universität
München
Förderung während des gesamten
Studiums nach dem Bayerischen
Begabtenförderungsgesetz
1979 - 1981 : Anfertigung der Dissertation in der
Abteilung für Experimentelle
Medizinische Mikrobiologie am
Max von Pettenkofer-Institut
München
25.10.1982 : Bestehen der Ärztlichen Prüfung
2.11.1982 : Approbation als Arzt
seit 7.12.1982 : wissenschaftlicher Mitarbeiter in
der Abteilung für Experimentelle
Medizinische Mikrobiologie am
Max von Pettenkofer-Institut
München

